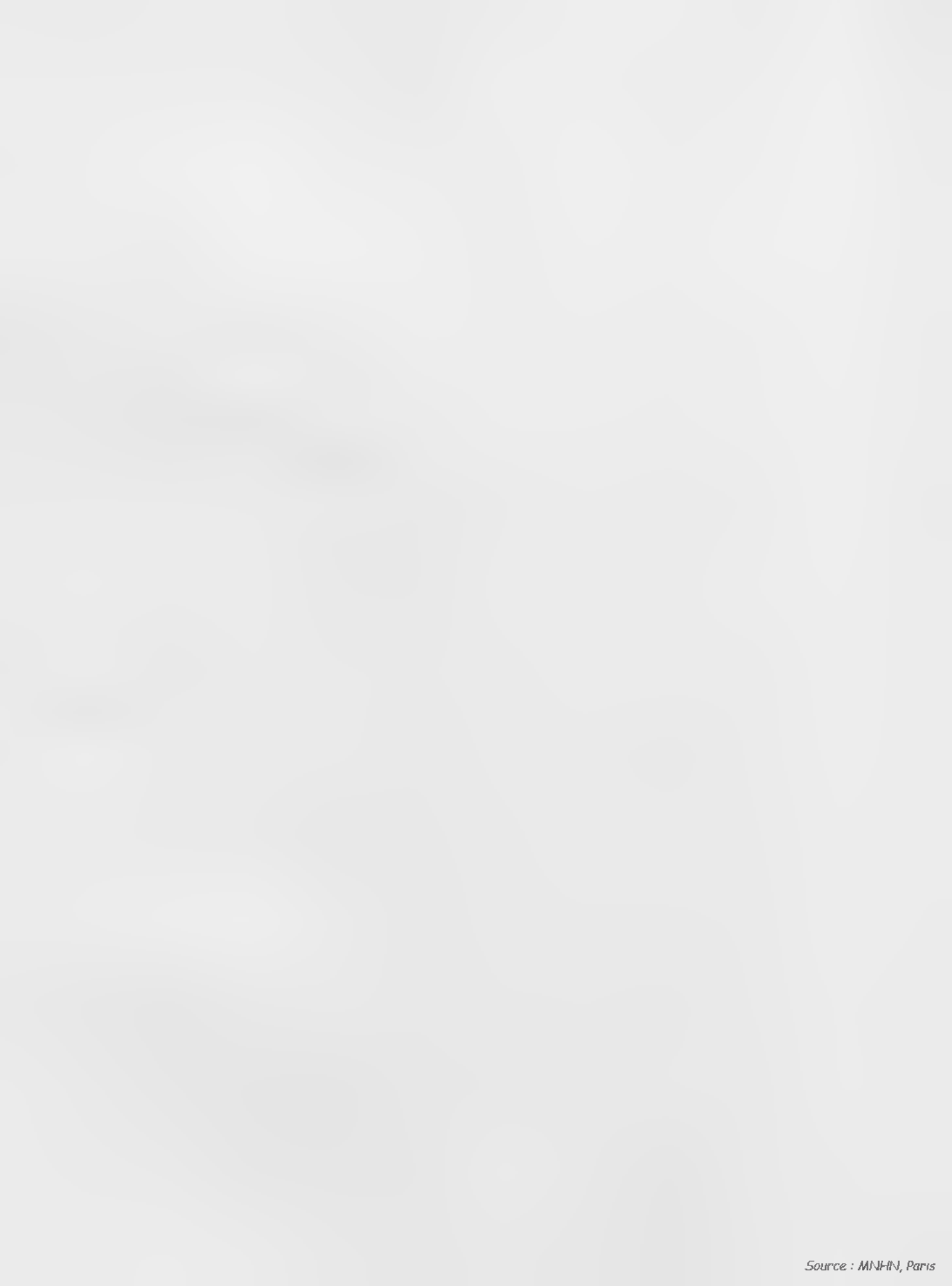
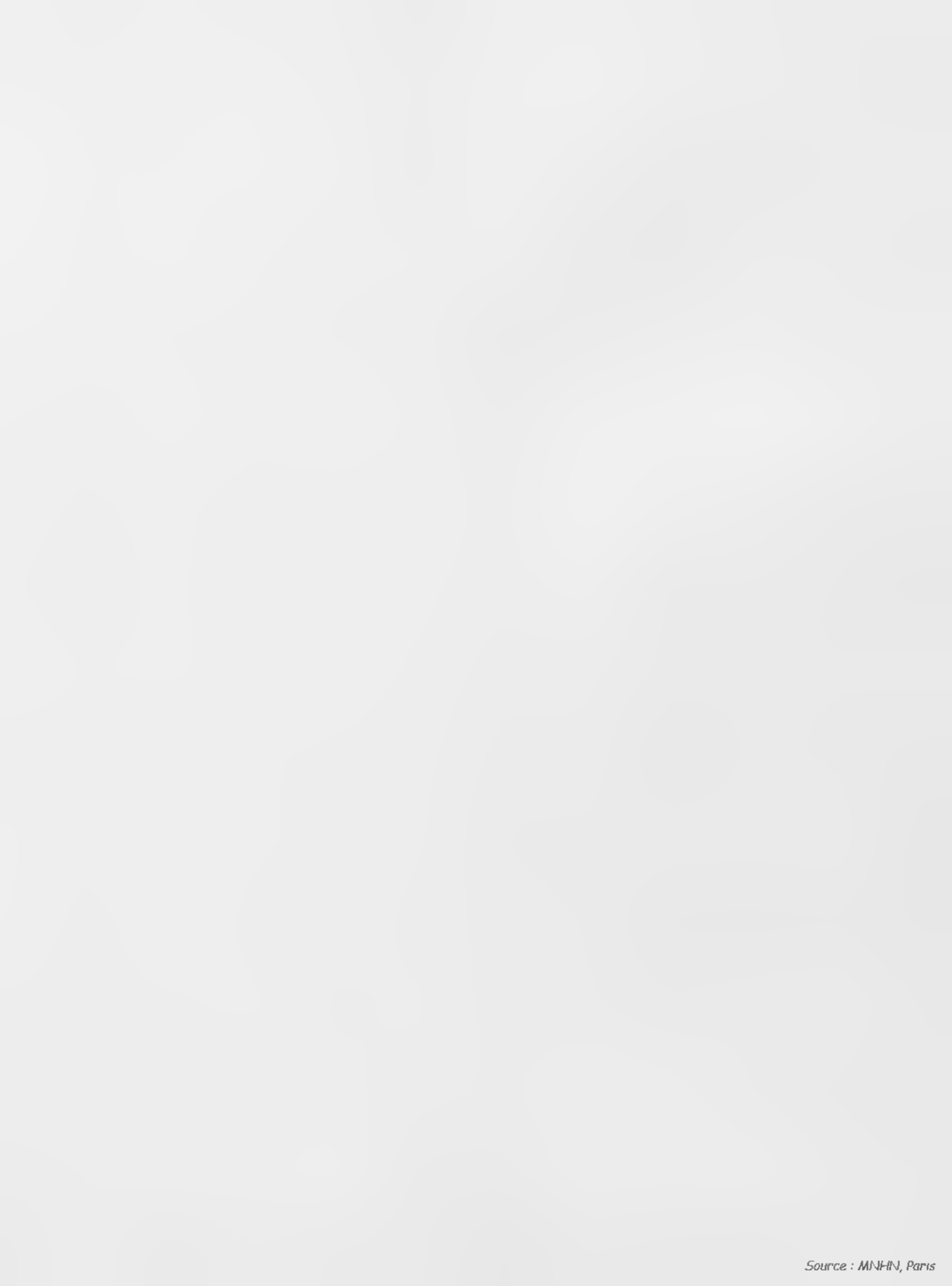
P 160 c2

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

1) Pr 260
2 ex

MÉMOIRES
DU
MUSÉUM NATIONAL
D'HISTOIRE NATURELLE

1) A

NOUVELLE SÉRIE

3)

Série A, Zoologie

TOME LXII

FASCICULE UNIQUE

4) 62-64

5) 1970-71

Jacques LELOUP

LES MÉCANISMES DE RÉGULATION DE L'IODURÉMIE ET LEUR CONTROLE ENDOCRINIEN CHEZ LES TÉLÉOSTÉENS EN EAU DOUCE

PARIS

ÉDITIONS DU MUSÉUM

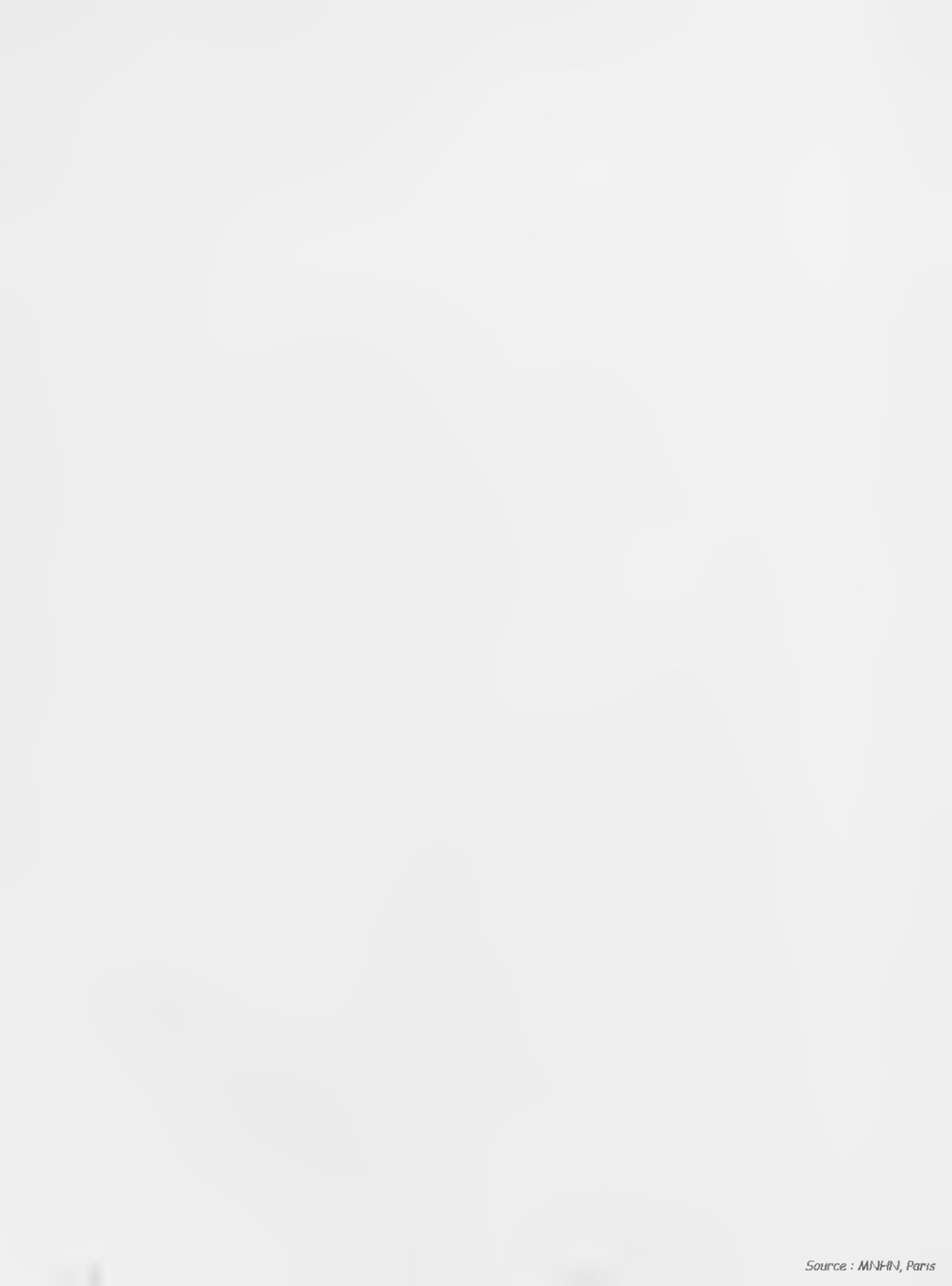
38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire (V^e^)

1970

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

MÉMOIRES
DU
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

NOUVELLE SÉRIE

Série A, Zoologie

TOME LXII

FASCICULE UNIQUE

PARIS
ÉDITIONS DU MUSÉUM
38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire (V^e^)

1970

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

MÉMOIRES DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
Série A, Tome LXII

LES MÉCANISMES DE RÉGULATION DE L'IODURÉMIE ET LEUR CONTROLE ENDOCRINIEN CHEZ LES TÉLÉOSTÉENS EN EAU DOUCE

par

Jacques LELOUP

Laboratoire de Physiologie générale et comparée du Muséum d'Histoire Naturelle;
Laboratoire d'Endocrinologie comparée associé au C.N.R.S.

7, rue Cuvier, Paris (5e)

SOMMAIRE

INTRODUCTION I

MATÉRIEL ET MÉTHODES 5

I. Espèces utilisées 5

II. Techniques utilisées 5

A. Techniques biologiques 5

B. Techniques physico-chimiques 6

III. Abréviations 7

IV. Expression des résultats 7

Première partie

TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE

CHAPITRE I. — MISE EN ÉVIDENCE ET MESURE DE L'ABSORPTION D'IODURE 8

I. Choix d'un protocole expérimental 8

II. Cinétique de l'absorption d'iodure 10

III. Flux quantitatif d'entrée d'iodure 12

IV. Conclusions 14

CHAPITRE II. — MISE EN ÉVIDENCE D'UN TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE 15

I. Protocole expérimental 15

II. Résultats.

A. *In vivo* 15

B. *In vitro* 17

III. Discussion 17

IV. Conclusions 19

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE III. — CARACTÉRISTIQUES DU TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE 20

I. Nature de l'iode concentré dans la branchie 20

II. Influence de divers facteurs physico-chimiques 20
A. *Composition ionique du milieu* 20
B. *pH* 21
C. *Température* 22

III. Nature du transport 23
A. *Gradient électrochimique* 23
1. Gradient chimique 23
2. Gradient électrique 24
B. *Activité métabolique et source d'énergie* 24
C. *Comparaison du transport branchial et du transport thyroïdien de l'ion* I^- .. 25
1. Action de divers anions et antithyroïdiens 26
2. Action de l'ouabaïne et des ions Na^+ et K^+ 28
3. Saturation du mécanisme par l'iodure 28
D. *Comparaison du transport branchial de* I^- *et du transport d'autres halogènes :* Cl^- *et* Br^- 30
1. Action de l'ion HCO_3^- 30
2. Influence d'un inhibiteur de l'anhydrase carbonique : l'acétazolamide 31
E. *Influence de divers facteurs écologiques* 33
1. Influence du changement de salinité du milieu extérieur 33
2. Influence d'un déséquilibre cationique du milieu 34
3. Température du milieu extérieur 36

IV. Discussion 36

V. Conclusions 41

CHAPITRE IV. — ÉTUDE DU MÉCANISME DU TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE 42

I. Mise en évidence d'une oxydation de l'iodure 42
A. *Incubation en anaérobiose en présence de* I_2 42
B. *Influence de la tyrosine* 43
C. *Discussion* 44

II. Étude du mécanisme d'oxydation de l'iodure 44
A. *Action de la catalase sur le transport de l'iodure* 44
B. *Mise en évidence d'une iodoperoxydase branchiale* 45
C. *Discussion* 47

III. Conclusions 48

CHAPITRE V. — RÉGULATION DU TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE 49

I. Étude du contrôle thyroïdien 49
A. *Mise en évidence* 49
B. *Sensibilité du transport branchial aux hormones thyroïdiennes* 50
C. *Spécificité du contrôle thyroïdien* 52
D. *Discussion* 53

II. Mécanisme du contrôle thyroïdien 53
A. *Action sur la synthèse de protéines* 54
B. *Action comme activateurs allostériques* 55
C. *Action par médiation du 3',5'-AMP cyclique* 56
D. *Discussion* 57

III. Conclusions 57

Source : MNHN, Paris

Deuxième Partie

TRANSPORT SANGUIN DES IODURES : L'IODUROPHORINE

CHAPITRE I. — LIAISON DE L'ION IODURE DANS LE PLASMA DE CERTAINS TÉLÉOSTÉENS 58
I. Répartition des iodures dans le sang de divers Téléostéens 58
A. *Protocole expérimental.* 58
B. *Résultats* 59
C. *Discussion* 59
II. Mise en évidence d'une liaisou de l'ion I^- dans le plasma de Saumon et de Truite .. 60
A. *Hématies lavées* 60
B. *Dialyse d'équilibre de plasma* 60
C. *Discussion* 61
III. Répartition zoologique du facteur de liaison de l'ion I^- 63
IV. Conclusions. 63

CHAPITRE II. — ÉTUDE DU FACTEUR PLASMATIQUE DE LIAISON DE L'ION I^- : L'IODUROPHORINE. 64
I. Nature du facteur de liaison 64
A. *Précipitation des protéines par un sel neutre* 64
B. *Électrophorèse sur papier* 64
C. *Filtration sur gel de dextrane* 65
D. *Discussion* 67
II. Caractéristiques de la liaison iodurophorine - iodure 68
A. *Influence de facteurs physico-chimiques* 68
1. Effet de la température 69
2. Effet du pH 69
3. Effet de la concentration en iodure 69
4. Effet de divers anions ou antithyroïdiens 71
5. Effet de l'acétylation de l'iodurophorine 72
B. *Mesure de la constante d'association* 73
1. Traitement mathématique et protocole expérimental 73
2. Résultats 75
C. *Discussion* 75
1. Nombre d'ions liés 76
2. Affinité de l'iodurophorine 76
3. Nature des sites de liaison 77
III. Conclusions. 79

CHAPITRE III. — ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE DE L'IODUROPHORINE 80
I. Variations physiologiques de la liaison de l'ion I^- 80
A. *Saumon* 80
B. *Truite* 81
C. *Muge* 81
D. *Discussion* 82
II. Signification physiologique de la liaison de l'ion I^- 83
A. *Iodurophorine et iodurémie totale* 84
B. *Influence de l'iodurophorine sur la distribution de l'iodure* 84
1. Tissus ne concentrant pas l'ion I^- 84
a. Répartition tissulaire de I^- 84
b. Espace iodure 85
2. Tissus concentrant l'ion I^- 86
C. *Influence de l'iodurophorine sur l'absorption des iodures* 86
D. *Influence de l'iodurophorine sur l'excrétion des iodures* 87

Source : MNHN, Paris

1. Saumon 87
2. Truite 87
E. *Discussion* 88
III. Régulation de l'iodurophorine 90
A. *Contrôle thyroïdien* 90
1. Stimulation thyroïdienne 90
a. Endogène 90
b. Exogène 91
2. Inhibition thyroïdienne et compensation par la thyroxine 91
B. *Contrôle somatotrope* 92
C. *Discussion* 93
IV. Conclusions 94
CONCLUSIONS GÉNÉRALES 95
BIBLIOGRAPHIE 99

Source : MNHN, Paris

INTRODUCTION

L'iode est un constituant essentiel des hormones thyroïdiennes, lesquelles conditionnent la croissance et le développement des Téléostéens (La Roche et *al.*, 1966; Norris, 1966) comme celui des autres Vertébrés. Il doit être présent en quantité suffisante dans le régime alimentaire pour assurer un fonctionnement thyroïdien harmonieux, la déficience en iode se traduisant par les goîtres observés dans toutes les classes de Vertébrés (Schlumberger, 1955). Cependant, chez les Vertébrés aquatiques, les poissons par exemple, le milieu extérieur représente une source potentielle d'iodure. Les Téléostéens marins vivent dans un milieu riche en iode (50 µg par litre en moyenne) et boivent une quantité notable d'eau de mer qui leur apporte l'iode indispensable. Les Téléostéens d'eau douce, au contraire, vivent dans un milieu pauvre en iode et ingèrent des quantités d'eau nettement plus faibles qu'en milieu marin (Potts et Evans, 1967; Potts et *als.*, 1967; Evans, 1967; Maetz et Skadhauge, 1968). Il en résulte qu'un mécanisme actif d'absorption de l'iodure du milieu extérieur paraît nécessaire chez ces espèces, non seulement pendant les périodes de jeûne physiologique, parfois fort longues chez certains Téléostéens migrateurs, mais aussi sans doute en dehors de celles-ci, par suite de la pauvreté en iode de l'alimentation.

Un transport branchial actif concernant principalement Na^+ et Cl^- est bien démontré chez les Téléostéens d'eau douce (Krogh, 1939; Meyer, 1948, 1951; Maetz, 1964). D'après Krogh (1938), dont la conclusion est reprise dans une monographie récente (Potts et Parry, 1964), ce mécanisme de transport ne distingue pas l'ion Br^- de l'ion Cl^-, mais la branchie est pratiquement imperméable à l'ion I^-. Cependant, l'examen du protocole expérimental adopté par Krogh, par suite des nécessités techniques de l'époque (absence d'isotopes radioactifs de l'iode, méthodes de dosage d'iode peu sensibles) conduit à invalider sa conclusion relative à l'ion I^-. L'auteur danois met en effet des Cyprins dans une solution d'iodure d'une concentration telle, 10^{-4}M (plusieurs milliers de fois supérieure à celle de l'eau douce et à l'iodurémie du Cyprin (Tableau 1) qu'il était impossible de mettre en évidence une absorption active de cet ion. En fait, la réalité d'une origine non alimentaire d'iodure chez les Téléostéens d'eau douce découle implicitement du niveau de leur iodurémie, spécialement dans certaines conditions physiologiques.

***

L'iodurémie des Téléostéens d'eau douce (Tableau 1) varie considérablement selon les espèces. Tous les Cypriniformes étudiés ont une iodurémie faible, de 0,5 à 3,7 µg p. 100 ml en moyenne, donc du même ordre de grandeur que celle d'autres poissons d'eau douce (Cyclostomes, Holostéens, Chondrostéens, Dipneustes), des Amphibiens (*Necturus* excepté), des Oiseaux ou des Mammifères (Tableau 2). Des valeurs nettement plus élevées sont obtenues chez l'Anguille (Tableau 1) dont l'iodurémie peut dépasser celle des Téléostéens marins appartenant au même ordre des Anguilliformes : le Congre et la Murène (Tableau 2). Enfin, l'iodurémie des Clupéiformes est généralement importante et peut atteindre des valeurs considérables (jusqu'à plus de 2 mg) chez trois Téléostéens migrateurs amphibiotiques potamotoques (Alose, Saumon et Truite de mer) pêchés lors de leur montée reproductrice (Tableau 1).

Sans doute faut-il considérer que la teneur en iode du régime alimentaire influence, comme chez les Mammifères ou les Oiseaux (Tableau 2), le niveau de l'iodurémie des Téléostéens. Ainsi celle-ci est considérablement augmentée chez des Truites ou des Saumons recevant un régime riche en iode (Tableau 1). Il n'apparaît pas cependant que l'intervention de ce facteur puisse rendre compte de toutes les variations interspécifiques de l'iodurémie des Téléostéens d'eau douce, ni de toutes les variations intraspécifiques, lesquelles peuvent être importantes (*cf.* limites de variation, Tableau 1). En effet, la plupart des valeurs du Tableau 1 sont obtenues sur des poissons jeûnant depuis au moins une semaine (Brochet, Cypriniformes) ou un temps supérieur, jusqu'à plusieurs mois (Anguille). En outre, si la richesse en iode du milieu marin, où ils ont séjourné longtemps, est très probablement à l'origine des iodurémies très élevées mesurées chez les migrateurs potamotoques lors de leur montée reproductrice, et de la différence importante observée entre le Saumon de montée et le jeune Saumon (Tableau 1), il n'en demeure pas moins que ces iodurémies :

a) Dépassent celles mesurées chez tous les Vertébrés, notamment les poissons strictement marins (Fontaine et Leloup, 1952);

Source : MNHN, Paris

Tableau I

Iodurémie des Téléostéens en eau douce

Ordre et espèce	Condition	Iodurémie (µg p. 100 ml)	Référence
CLUPÉIFORMES			
Alose (*Alosa alosa* L.) [12]*	Montée reproductrice	591 (134-2244)**	1,2
Saumon (*Salmo salar* L.) [6]	Parr (hiver)	4,4 (1,6-8,5)***	3,4
— — [5]	Parr-smolt	2 (1,0-2,3)***	4,5
— — [1]	Parr-smolt (régime riche en iode)	45***	5
— — [9]	Smolt en migration	28,3 (16,5-40,5)***	3,4
— — [6]	Smolt en stabulation	6,5 (2,3-11,4)***	5
— — [39]	Montée reproductrice	84,3 (19,7-228)	6
— — [39]	Frayères (Eau : 0,45 µg I p. l.)	12,6 (2,1-34,6)	6
Saumon (*Oncorhynchus tschawytscha* Walbaum)	Montée reproductrice (fin mai)	10,3	7
	Frayères (mi-septembre) (Eau : 0,25 µg I^- p. l.)	4,3	7
Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* Rich.)	Régime pauvre en iode	7,3 (1,2-11)	8
— — — — —	Régime riche en iode	78,3 (34-141,3)	8
— — — — — [6]	Régime riche en iode	26,6 (5,3-72,5)	9
— — — — — [9]	Jeûne : 1 mois (Eau : 10 µg I^- p. l.)	392 ± 50	10
Truite commune (*Salmo fario* L.) [5]	Eau (0,45 µg I p. l.)	4,9 (1,5-11)	5
Truite de mer (*Salmo trutta* L.) [5]	Montée reproductrice	306 (107-597)	2,11
— — (*Salmo gairdneri* Rich.)	Frayères	28	12
Corégone (*Coregonus clupeaformis*)	(Eau : 0,30 µg I^- p. l.)	11,2-86,2	13
Brochet (*Esox lucius* L.) [2]	Jeûne ⩾ 1 semaine	17 (14,4-19,5)	5
CYPRINIFORMES			
Carpe (*Cyprinus carpio* L.) [9]	Jeûne ⩾ 1 semaine	2,1 (0,9-3)	5
Tanche (*Tinca tinca* L.) [1]	— —	3,7	5
Poisson rouge (*Carassius auratus* L.) [9]	— —	3,3 (1,8-5,7)	14
Gardon (*Gordonus rutilus* L.) [1]	— —	0,9***	5
Brême (*Abramis brama* L.) [1]	— —	0,5***	5
Poisson-chat (*Ameiurus nebulosus* Les) [1]	— —	0,6***	5
ANGUILLIFORMES			
Anguilla (*Anguilla anguilla* L.) [48]	Jeûne ⩾ 2 semaines	19,5 (2-71)	5,15

* Nombre de déterminations.
** Limites de variation.
*** Valeurs obtenues sur des mélanges de plasma.

RÉFÉRENCES

1. Fontaine et Leloup, 1950 *a*. — 2. Leloup et Fontaine, 1960. — 3. Fontaine et Leloup, 1950 *c*. — 4. Fontaine et *al.*, 1952. — 5. Leloup, *résultats inédits*. — 6. Fontaine et Leloup, 1962. — 7. La Roche et *al.*, 1963. — 8. La Roche et *al.*, 1965. — 9. Fontaine et Leloup, 1959. — 10. Hunn et Reineke, 1964. — 11. Fontaine et Leloup, 1952. — 12. Robertson et Chaney, 1953. — 13. Hickman, 1962. — 14. Leloup et Erchinger, *résultats inédits*. — 15. Leloup, 1958 *b*.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 2

Iodurémie des Vertébrés (Téléostéens d'eau douce exceptés)

Classe ou ordre et espèce	Iodurémie (µg p. 100 ml)	Référence
CYCLOSTOMES		
Lamproie marine (*Petromyzon marinus* L.) [14]*	2,5 (0,8-4,7)**	1,2
SÉLACIENS		
Petite Roussette (*Scyliorhinus canicula* L.)[18]	20,1 (2,9-94)	2,3
Grande Roussette (*Scyllium stellare* L.) [1]	3,4	2
Raie (*Raia miraletus* L.) [1]	0,9	2
Torpille (*Torpedo marmorata* RISSO) [16]	5,5 (0,35-16)	4
CHONDROSTÉENS		
Esturgeon (*Acipenser oxyrhynchus*) [7]	3,8 (1,5-6,45)	2
Esturgeon (*Acipenser fulvescens*) [2]	1,15 (0,8-1,5)	2
HOLOSTÉENS		
Lepisosté (*Lepidosteus osseus*) [3]	2,27 (0,47-4,15)	2
TÉLEOSTÉENS (Marins)		
Murène (*Murena helena L.*) [8]	14,6 (5,9-29,6)	5
Congre (*Conger conger L.*) [7]	17,4 (3,1-51,8)	5
Muge (*Mugil auratus RISSO*) [8]	35,8 (11,6-79,5)	5
Chinchard (*Trachurus trachurus L.*) [2]	40,2***	5
Rouget de roche (*Mullus surmuletus L.*) [2]	2,15 (2,1-2,2)***	5
Sargue (*Diplodus sargus L.*) [1]	6,1***	5
Saupe (*Boope salpa L.*) [1]	2,7	2
Denté (*Dentex dentex L.*) [2]	11,4 (6,6-16,2)	6
Marbré (*Pagellus mormyrus* C.V.) [1]	24,3***	5
Labre (*Labrus berggylta* Asc.) [3]	25,4 (16,4-41,0)	5
Uranoscope (*Uranoscopus scaber* L.) [1]	25,3	2
Maquereau (*Scomber scombrus* L.) [1]	27,2***	5
Rascasse (*Scorpaena scrofa* L.) [1]	46,1	5
Rascasse (*Scorpaena porcus* L.) [4]	17,9 (14,1-23,9)***	2
Plie (*Pleuronectes platessa* L.) [1]	85,5***	5
Flet (*Platichthye stellatus*) (Eau ± saumâtre)	0,7-95	7
DIPNEUSTES		
Protoptère (*Protopterus annectens* OWEN)	3,2 (2-4,6)	8
AMPHIBIENS		
Grenouille (*Rana pipiens*) (1)	0,7***	9
Triton (*Taricha torosa*) [2]	Non dosable	10
Salamandre (*Amphiuma tridactylum*) [7]	Non dosable	10
Salamandre (*Necturus maculosus*) [10]	65 (58-71)	10
OISEAUX		
Pigeon ramier (*Columba palumbus*)	2,43	11
Palombe migratrice (*Columba palumbus*)	2,23	11
Pigeon domestique (*Columba livia*)	1,78	11
Poulet (régime pauvre en iode) [51]	0,20 ± 0,20	12
Poulet (régime riche en iode) [34]	0,22 ± 0,12	12
MAMMIFÈRES		
Castor [1]	3	13
Chien [1]	3	13
Lapin [3]	1,2 (0,8-2)	14
Rat (régime pauvre en iode) [11]	0,7 ± 0,3	12
Rat (régime riche en iode) [34]	3,8 ± 0,3	12
Homme	0,5 (0,1-1)	15

* Nombre de déterminations.
** Limites de variation.
*** Valeurs obtenues sur des mélanges de plasmas.

1. FONTAINE et LELOUP, 1950 *b*. — 2. LELOUP, *Résultats inédits*. — 3. LELOUP et FONTAINE, 1960. — 4. LELOUP, 1949 *a*. — 5. LELOUP, 1949 *b*. — 6. LELOUP et OLIVEREAU, 1950. — 7. HICKMAN, 1962. — 8. LELOUP, 1958 *a*. — 9. MEISNER, 1962. — 10. KERKOF et *al.*, 1963. — 11. POIVILLIERS de la QUÉRIÈRE, 1960. — 12. ROSENBERG et *al.*, 1964. — 13. KELSEY et *al.*, 1960. — 14. LACHIVER et LELOUP, 1949. — 15. WAGNER et *al.*, 1961.

Source : MNHN, Paris

b) Sont obtenues sur des poissons pêchés en eau douce, à 30 km de l'embouchure, et en état de jeûne physiologique depuis quelque temps;

c) Peuvent être plusieurs milliers de fois supérieures à la concentration en iodure du milieu extérieur.

Une estimation précise du rapport de concentration en I^-, milieu intérieur/milieu extérieur, a pu être faite dans quelques cas. Ce rapport peut atteindre 3 000 chez des Corégones et varie au cours de l'année (HICKMAN, 1962). Bien que ces poissons soient saignés dès la capture, il semble invraisemblable, comme le souligne HICKMAN, que la nourriture puisse apporter de telles quantités d'iode. Chez la Truite arc-en-ciel, à jeun depuis près d'un mois, mais séjournant dans une eau enrichie en iodure (10 µg par litre), le rapport atteint 400, d'après les données de HUNN et REINEKE (1964). Le cas du Saumon est encore plus démonstratif à cet égard puisque ce Téléostéens subit, lors de sa montée reproductrice, un jeûne prolongé. Ainsi, l'iodurémie moyenne du Saumon atlantique, qui est de 84 µg au début de la montée, est encore de 13 µg sur les frayères, après environ 8 mois de jeûne (FONTAINE et LELOUP, 1962) soit en moyenne 300 fois la teneur du milieu extérieur (Tableau 1). De même, chez le Saumon du Pacifique, *Oncorhynchus tschawytscha*, l'iodurémie, 10,3 µg lors de la montée, s'abaisse en trois mois et demi de jeûne, à 4,3 µg (LA ROCHE et *al.*, 1963), soit encore 170 fois la concentration en iodure de l'eau (Tableau 1).

De tels rapports de concentration impliquent, chez ces Téléostéens, un (ou des) mécanisme (s) d'absorption active de l'ion I^- du milieu extérieur, associé (s) ou non à un (ou des) mécanisme (s) de rétention de celui-ci. En outre, les variations inter- et intraspécifiques de l'iodurémie, signalées plus haut, indiquent, d'une part, que le nombre et (ou) l'efficience de ces mécanismes peuvent différer selon les espèces, d'autre part, que leur efficience, pour une espèce donnée, doit être fonction de l'état physiologique du poisson.

L'objet de ce travail est donc la mise en évidence et l'étude des caractéristiques et de la régulation physiologique de ce (ou ces) mécanisme (s) d'absorption et éventuellement de rétention, de l'ion iodure chez les Téléostéens en eau douce.

Source : MNHN, Paris

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. ESPÈCES UTILISÉES

Cette étude a été réalisée essentiellement sur quatre espèces de Téléostéens : le Saumon atlantique (*Salmo salar* L.), la Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* RICH.), l'Anguille européenne (*Anguilla anguilla* L.) et la Carpe (*Cyprinus carpio* L.). De nombreuses autres espèces de Téléostéens ont cependant été utilisées, à titre de comparaison, ainsi que des espèces appartenant à l'ordre des Cyclostomes et à d'autres classes ou ordres de Poissons : Elasmobranches, Chondrostéens, Holostéens, Dipneustes.

Tous les *Saumons* proviennent du bassin de l'Adour. Nous décrirons brièvement le cycle vital de cette espèce et les différents stades étudiés.

Le jeune Saumon sédentaire, *parr* [1], né en eau douce, dont la robe se rapproche de celle de la Truite, subit au printemps, généralement à l'âge d'un an, moins souvent à 2 ans, et très rarement à 3 ans (VIBERT, 1950), une transformation physiologique, la *smoltification*, laquelle se manifeste extérieurement par un allongement du poisson, une argenture du corps (dépôt de guanine sur les écailles) et une pigmentation des nageoires. Ce *smolt*, nageant en pleine eau, est entraîné par les crues printanières vers la mer (migration catadrome). Cependant, avant la *smoltification*, un certain nombre de parrs ♂ deviennent sexuellement mûrs en hiver et participent, sur les frayères, à la fécondation des œufs (cycle paedogénétique). Après un à quatre ans de séjour en mer, le Saumon, dont la croissance a été très active, entreprend sa migration de reproduction en remontant sa rivière natale (Saumon de montée). La maturation génitale demande 3 à 11-12 mois pendant lesquels le poisson reste à jeun (jeûne synchonique). Après la reproduction, en décembre (Saumons de frayères), la plupart des Saumons meurent. Cependant, quelques-uns, moins de 10 p. 100, (JONES, 1959), ayant revêtu une livrée argentée rappelant celle du *smolt*, les *mendeds*, entreprennent, au printemps suivant la fraye, une nouvelle migration catadrome suivie, après le séjour maritime, d'une deuxième migration reproductrice.

Les jeunes Saumons utilisés pèsent généralement moins de 60 g et se répartissent en quatre groupes :

a) *Parrs d'hiver* (décembre-janvier), ♂ mûrs capturés sur les frayères, à Oloron-Sainte-Marie, à environ 100 km de la mer,

b) *Parrs de printemps*, pêchés en hiver comme le groupe précédent et gardés jusqu'en mars-avril dans un étang (Lees-Athas),

c) *Parrs smoltifiés*, de même origine et gardés dans le même étang que les *parrs de printemps* jusqu'en mars-avril, mais ayant revêtu la livrée du *smolt*,

d) *Smolts* pêchés, en mars-avril, dans le Gave d'Oloron (Sordes) à 35 km de la mer, pendant leur migration catadrome.

Les Saumons adultes (2 à 10 kg) sont capturés en mars-avril (montée) dans les Gaves Réunis, à Peyrehorade, à 30 km de l'embouchure, à Sordes en février-avril *(mended)* et à Oloron (frayères).

Les *Truites* arc-en-ciel proviennent de diverses pisciculture et tous les autres Téléostéens d'eau douce, de rivières ou étangs de la région parisienne (Brochet, Carpe, Brême, Gardon, Tanche, Poisson-chat, Lote, Perche soleil, Anguille), de la Somme ou de la Loire-Atlantique (Anguille), d'Auvergne (Omble-chevalier), du bassin de l'Adour (Truite commune, Truite de Mer, Alose).

Les espèces marines (Téléostéens ou Elasmobranches) sont pêchées dans l'Atlantique (Biarritz, Arcachon) ou la Méditerranée (Banyuls, Marseille), les Lamproies marines dans la Loire lors de la montée reproductrice, les Esturgeons et Lépisostés dans la région de Québec [2] et les Protoptères aux environs de Dakar[2].

II. TECHNIQUES UTILISÉES

A. TECHNIQUES BIOLOGIQUES

1. Prélèvement de sang

Les poissons sont généralement saignés par section de l'aorte dorsale et de la veine caudale en arrière de la région anale. Cependant, dans le cas des Anguilliformes (Anguille, Congre, Murène), après immobilisation de l'animal dans un appareil à contention et incision de la peau et des muscles sous-jacents, dans la région cardiaque, en avant des nageoires

---

1. La terminologie anglaise est adoptée en l'absence d'une terminologie française adéquate.

2. Nous remercions très vivement Monsieur le Professeur MAGNIN, du Centre de Biologie de Québec, et Messieurs BEAULIEU et MONTREUIL, de l'Aquarium de Québec, qui ont récolté les échantillons de plasma des Esturgeons et Lepisostés, et Monsieur le Professeur MONOD, membre de l'Institut, qui nous a procuré les Protoptères.

Source : MNHN, Paris

pecterales, l'aorte ventrale est disséquée et le sang recueilli après section de cette artère à 1 ou 2 cm du cœur, Dans le cas des pimpeneaux (Anguilles ♂), le sang est directement obtenu au cœur par section de la tête au niveau du bulbe aortique.

Le plasma est obtenu par centrifugation rapide du sang bépariné.

2. Opérations

L'hypophysectomie de l'Anguille est réalisée d'après la technique de FONTAINE et CALLAMAND, laquelle comporte une incision de la muqueuse de la voûte palatine, suivie d'un fraisage de celle-ci et d'une aspiration de l'hypophyse au moyen d'une canule reliée à une trompe à vide.

L'ablation des corpuscules de Stannius de l'Anguille est effectuée d'après la technique mise au point par LELOUP-HATEY (1964).

3. Incubations

Les incubations de branchies ou de thyroïde sont réalisées dans un incubateur de type Dubneff (modèle Jouan) permettant une agitation régulière du milieu d'incubation.

B. TECHNIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

1. Substances marquées

Nous avons utilisé l'iodure radioactif ^{131}I sans entraîneur, (Na I sans réducteur) et ^{125}I sans entraîneur, fournis par le Centre d'Études Nucléaires de Saclay.

2. Mesures de radioactivité

La radioactivité des échantillons est mesurée au moyen d'une sonde à scintillation (cristal creux d'iodure de sodium activé au thallium) reliée à une échelle automatique de comptage Tracerlab munie d'un spectromètre. Dans les expériences de double marquage, ^{131}I interfère dans le comptage de ^{125}I dans une proportion de 14,7 p. 100 du ^{131}I présent dans l'échantillon. Cette interférence est limitée en choisissant des conditions expérimentales telles (par exemple, injection de ^{125}I à l'animal et ^{131}I dans le milieu extérieur) que la radioactivité de l'échantillon (tissu) en ^{125}I soit considérablement supérieure à celle de ^{131}I : la correction due à ^{131}I représente alors moins de 1 p. 1 000 de la radioactivité de ^{125}I et peut être négligée. Dans les rares cas où cette interférence dépasse 1 p. 1 000, le facteur de correction de 14,7 p. 100 est appliqué.

La répartition de la radioactivité sur les électrophorégrammes et les chromatogrammes sur papier est mesurée au moyen d'un tube Geiger (Tracerlab TGC2) par enregistrement automatique (Actigraph Nuclear relié à un intégrateur Tracerlab) ou par scintillation dans le cristal puits après découpage de la bande de papier en fragments de 1 cm de large.

3. Électrophorèse sur papier

Elle est réalisée à la chambre froide (4°C) en tampon vérenal (pH = 8,6, μ = 0,1) au moyen de l'appareil Electroréophor Pfleuger et sur papier Whatman 3 MM, le papier étant suspendu horizontalement dans l'enceinte d'électrophorèse. Les protéines sont révélées après mesure de la radioactivité par l'amidoschwartz 10 B (GRASSMAN et HANNIG, 1950).

4. Chromatographie sur papier

Elle est effectuée, en phase descendante, sur papier Whatman I, en n-butanol-acide acétique-eau (78 : 5 : 17) (BAc) contenant 300 mg par litre d'hyposulfite de sodium ou en n-butanol-éthanol-0,5 N NH_4OH (BEA) préparé selon GRASBECK et al (1960).

5. Filtration de plasma sur gel de dextrane

La colonne de Séphadex G 200, préparée selon FLODIN et KILLANDER (1962), a 2 cm de diamètre et 110 cm de haut. L'élution est réalisée, à 4 °C, par du bicarbonate d'ammonium 0,1 M et le volume de chaque fraction recueillie fixé à 10 ml. La teneur en protéines de l'effluent est déterminée par mesure de l'absorption à 276 mμ et la position des sels estimée par mesure de la conductivité.

6. Dosages chimiques

La technique de dosage de l'iodure (LACHIVER et LELOUP, 1949, 1954. LACHIVER, 1956) est basée sur l'action catalytique de cet halogène dans la réaction d'oxydo-réduction entre l'acide arsénieux et les sels cériques. L'iodure de l'eau est dosé soit directement, soit après minéralisation. L'iodure du plasma ou de la branchie est séparé de l'iode organique par traitement avec un volume égal d'acide trichloracétique à 20 p. 100 (plasma) ou par homogénéisation des branchies

Source : MNHN, Paris

dans l'acide trichloracétique à 10 p. 100. Après centrifugation, les précipités sont lavés deux fois par 5 volumes d'acide trichloracétique à 10 p. 100. La teneur en iodure est obtenue soit par dosage sur les liquides surnageants, soit par différence entre les teneurs en iode total et en iode organique.

La protéinémie est mesurée par la méthode du biuret (GORNALL et *al.*, 1949) et le chlore sanguin par la méthode de LAUDAT (1917).

III. ABRÉVIATIONS

Les abréviations suivantes sont utilisées dans le texte : MIT = 3-monoiodotyrosine; DIT = 3,5-diiodotyrosine; T3 = 3,5,3'-triiodothyronine; T4 = thyroxine; TSH = hormone thyréotrope; GH = hormone somatotrope; CBG = transcortine; TBG = α-globuline plasmatique liant la thyroxine; r = coefficient de corrélation; dl = degrés de liberté.

IV. EXPRESSIONS DES RÉSULTATS

Dans les tableaux le nombre d'animaux utilisés est indiqué entre parenthèses pour chaque groupe expérimental. Les moyennes sont suivies de leur erreur-type et la signification de la différence des moyennes (test t) exprimée par un ou des astérisques : * : $P < 0,05$; ** : $P < 0,02$; *** : $P < 0,01$; **** : $P < 0,001$.

Source : MNHN, Paris

PREMIÈRE PARTIE

TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE

CHAPITRE I

MISE EN ÉVIDENCE ET MESURE DE L'ABSORPTION D'IODURE

Une preuve indirecte de l'absorption d'iodure à partir du milieu extérieur, chez les Téléostéens d'eau douce, a été apportée, dès 1910, par MARINE et LENHART qui observent une réduction du goître, chez la Truite, après addition de lugol à l'eau. De même, HAMRE et NICHOLS (1926) observent une disparition de l'exophtalmie chez des alevins de Truite et BERG et *al.* (1954) une régression des tumeurs thyroïdiennes chez *Xiphophorus* par immersion des poissons dans une eau enrichie en iodure. Une démonstration directe de l'absorption des iodures peut être facilement obtenue en mesurant la radioactivité des tissus de poissons séjournant dans un bain de ^{131}I. Dans de telles conditions, plusieurs auteurs ont mis en évidence, soit par autoradiographie, soit par comptage, la présence de ^{131}I dans la thyroïde (BERG et *al.*, 1954; HUNN, 1963), le sang ou divers autres tissus (HUNN, 1963). HUNN (1963) a également mesuré la radioactivité corporelle de Truites et de Cyprins après divers temps d'immersion dans le bain radioactif. Cependant, aucune évaluation de la quantité d'iodure absorbée chez les poissons n'a jusqu'ici été réalisée. Nous avons donc effectué une étude cinétique de l'absorption de ^{131}I chez quatre espèces : Truite arc-en-ciel, Saumon, Anguille et Carpe, à partir de laquelle le flux d'entrée d'iodure a pu être calculé.

1. CHOIX D'UN PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Un poisson séjournant dans un aquarium, en eau confinée et adapté à son milieu, peut être considéré, en principe, relativement aux échanges d'ions poisson-milieu, comme un système fermé de deux compartiments en état d'équilibre. Dans ces conditions, l'évolution d'un indicateur nucléaire introduit dans le milieu extérieur se traduira, en fonction du temps, par une diminution de la concentration de celui-ci dans le milieu externe et son apparition progressive dans le milieu interne. Théoriquement, les variations des concentrations externe Q_1 et interne Q_2 suivent deux fonctions exponentielles respectivement de la forme :

$$Q_1 = (Q_0 - Q_{eq_1})\ e^{-\lambda t} + Q_{eq_1}$$
$$Q_2 = Q_{eq_2}\ \ (1 - e^{-\lambda t})$$

dans lesquelles :

Q_0 est la concentration initiale de l'indicateur dans le compartiment externe,

Source : MNHN, Paris

Q_{eq_1} et Q_{eq_2} les valeurs d'équilibre vers lesquelles tendent les deux courbes pour $t \to \infty$.

λ, la fraction renouvelée dans l'unité de temps (SOLOMON, 1960; MOREL et MAETZ, 1961).

Le flux d'entrée peut donc être mesuré, connaissant la concentration de l'isotope stable dans le compartiment externe, soit en suivant la disparition de l'indicateur du milieu externe, soit en mesurant son apparition dans le milieu interne.

Dans le cas d'un poisson en eau douce, les échanges ioniques sont relativement peu importants, de sorte que les variations en fonction du temps de la concentration de l'indicateur dans le milieu externe seront de faible amplitude et les mesures peu précises. Il est possible d'obvier à cet inconvénient en réduisant la grandeur du compartiment externe à 3 à 5 fois le volume du poisson. Cette méthode a été proposée et utilisée (MAETZ, 1964; MOTAIS, 1967) pour la mesure des échanges d'électrolytes chez divers Téléostéens; dans ce cas la quantité d'électrolytes du compartiment externe est petite par rapport à celle du compartiment interne et la concentration de l'indicateur dans le milieu externe diminue rapidement, les échanges pouvant représenter jusqu'à 20 p. 100 par heure des électrolytes externes. Cette méthode s'est révélée peu adéquate dans le cas de l'ion I^- comme le montre l'expérience suivante : une Anguille de 90 g est mise dans 500 ml d'eau additionnée de ^{131}I sans entraîneur. La radioactivité de l'eau mesurée à divers intervalles de temps, au cours d'un jour, diminue seulement d'environ 10 p. 100 en 24 heures traduisant une absorption très lente. Une précision suffisante des mesures exige donc un temps d'expérimentation supérieur à 24 heures et, par conséquent, un séjour prolongé du poisson dans un volume d'eau restreint, ce qui est peu physiologique.

L'autre solution de l'alternative, la mesure dans le compartiment poisson, implique de suivre *in vivo* en fonction du temps, soit la radioactivité totale d'un même poisson, soit celle de son milieu intérieur ou de sacrifier, à différents intervalles de temps, des groupes de poissons. Les deux premières techniques nécessitent des manipulations du poisson susceptibles de perturber son équilibre physiologique. C'est pourquoi nous avons adopté la dernière technique et suivi l'évolution de la radioactivité du milieu intérieur.

Si les poissons sont mis dans un volume d'eau plusieurs centaines de fois supérieur à leur propre volume, la quantité d'iodure dans le compartiment externe est alors très supérieure à celle du compartiment interne, de sorte que, les échanges étant très lents, la radioactivité spécifique doit rester pratiquement constante dans le milieu externe au cours de l'expérience. Nous avons vérifié qu'il en était bien ainsi dans les expériences où le flux d'entrée d'iodure a été mesuré : la radioactivité de l'eau diminue au maximum de 3 p. 100 et généralement d'un pourcentage plus faible, même pour des temps d'expérience atteignant 48 heures et la concentration d'iodure stable de cette eau ne varie pas sensiblement.

Le début de la fonction exponentielle représentant l'absorption d'iodure par le poisson peut être assimilé à une droite. Les résultats expérimentaux (fig. 1) justifient cette conception et indiquent que le flux sortant radioactif peut être considéré comme négligeable pendant un temps assez long. Dans ces conditions, le flux d'entrée est une fonction linéaire du temps et il est facile à évaluer.

Soit, en effet :

$\mathrm{RAS} = \left[\frac{\text{cpm } ^{131}\text{I p. litre}}{\mu\text{g } ^{127}\text{I p. litre}}\right]$, la radioactivité spécifique de l'iodure dans l'eau qui est constante.

V, en ml ou en g, l'espace iodure du poisson ou volume apparent de distribution de l'iodure, c'est-à-dire le volume théorique occupé par l'iodure du compartiment poisson en supposant que sa concentration, dans l'ensemble de ce compartiment, est identique à celle du plasma.

C, la radioactivité du plasma en cpm par ml ou g au temps t.

La quantité Q d'iodure (en μg) absorbée pendant le temps t (en heures), sera :

$$Q = \frac{V.C.}{RAS}$$

Source : MNHN, Paris

ou par heure : $\frac{V.C}{RAS.t}$

ou en microéquivalents (µEq) par heure : $Q = \frac{V.C}{127.RAS.t}$

En réalité, la présence de la thyroïde, qui concentre les iodures circulants, introduit, dans le système à deux compartiments envisagé ci-dessus, un troisième compartiment. La courbe d'absorption n'est plus une exponentielle simple et la valeur théorique d'équilibre n'est pas atteinte. Cependant, chez les poissons, la fixation d'iodure dans la thyroïde est relativement lente et nous avons vérifié, dans les expériences où le flux d'entrée a été évalué, que la radioactivité thyroïdienne, aux temps choisis pour estimer ce flux, représentait moins de 3 p. 100 de l'iodure absorbé par le poisson et pouvait donc être négligée.

En fonction de ces considérations théoriques, nous avons adopté le protocole expérimental suivant : les poissons, à jeun depuis au moins 48 heures, sont adaptés à un volume d'eau représentant au moins 250 fois leur volume, et généralement 5 à 600 fois. 100 à 300 µC de ^{131}I sans entraîneur sont ajoutés à l'eau et les poissons sacrifiés par lots, après divers temps de séjour. Les caractéristiques de chaque expérience (époque de l'année, nombre et poids moyen des poissons, température de l'eau, temps de sacrifice) sont indiquées dans le tableau 3. Les radioactivités du sang, du plasma et du milieu extérieur sont mesurées aux intervalles de temps choisis. Le volume d'eau et la radioactivité du milieu étant variables d'une expérience à l'autre, les résultats sont exprimés, afin de permettre la comparaison, non en coups par minute, mais par le rapport S/M des concentrations de ^{131}I dans le sang (S) et dans le milieu (M). Cette formulation n'introduit pas d'erreur notable puisque, la radioactivité de M restant pratiquement constante, les courbes du S/M et de la radioactivité du sang en coups par minute sont superposables, pour un même groupe de poissons, en choisissant des coordonnées adéquates.

L'espace iodure est mesuré pour chaque espèce, après injection de ^{131}I, à partir de la courbe d'épuration plasmatique de ce dernier en fonction du temps, qui est une double exponentielle. En coordonnées semi-logarithmiques la première droite, de pente prononcée, et limitée aux premiers temps après l'injection, représente la diffusion de l'iodure du plasma vers les liquides interstitiels. La deuxième droite, de pente plus faible, représente l'épuration de l'iodure par la thyroïde et les émonctoires. L'extrapolation au temps 0 de cette droite permet de connaître la radioactivité théorique du plasma au temps initial et, par suite, l'espace iodure. L'exactitude de cette méthode a été vérifiée sur 10 jeunes Saumons (*smolts*) en comparant les valeurs obtenues, par extrapolation au temps 0 de la courbe d'épuration du plasma, d'une part, et par détermination directe de l'espace iodure sur les mêmes animaux, d'autre part : cette détermination directe est effectuée en mesurant avec un compteur à scintillation à cristal plein la radioactivité corporelle totale du poisson après saignée et prélèvement de la thyroïde et en rapportant cette radioactivité, plus la radioactivité du sang, à celle d'1 g de plasma. Les deux méthodes donnent des résultats en excellent accord : l'espace iodure représente 20,3 p. 100 du poids corporel par la méthode d'extrapolation et 19,7 p. 100 en moyenne par la méthode directe.

II. CINÉTIQUE DE L'ABSORPTION D'IODURE

L'absorption d'iodure (fig. 1) est proportionnelle au temps d'immersion (courbe pratiquement linéaire) pendant une période variable selon l'espèce considérée et les conditions de température. Cette période est d'au moins 24 heures chez la Carpe (séries 1 et 2) et 48 heures chez l'Anguille (séries 1 et 2). Elle est d'environ 24 heures chez le jeune Saumon (*parr* et *smolt*), 12 heures chez la Truite à 15° (série 1) et de 6 heures au plus chez la Truite à 21° (série 3). L'inflexion précoce des courbes d'absorption des Salmonidés résulte de la combinaison de deux facteurs : d'une part, la fixation d'iodure dans la thyroïde est plus rapide chez la Truite ou le jeune Saumon que chez l'Anguille ou la Carpe, d'autre part, l'excrétion des iodures est plus rapide chez les Salmonidés que chez l'Anguille (LELOUP et FONTAINE, 1960). En outre la valeur de ces deux paramètres : fixation thyroïdienne et excrétion de ^{131}I, augmente en fonction de la température du milieu

Source : MNHN, Paris

(LELOUP et FONTAINE, 1960), ce qui explique la cinétique d'absorption des Truites à 21° : maximum à 24 heures et descente assez rapide ensuite; ^{131}I fixé dans la thyroïde n'est, en effet, restitué que lentement au plasma, après avoir suivi le cycle de la biosynthèse et de la sécrétion hormonale.

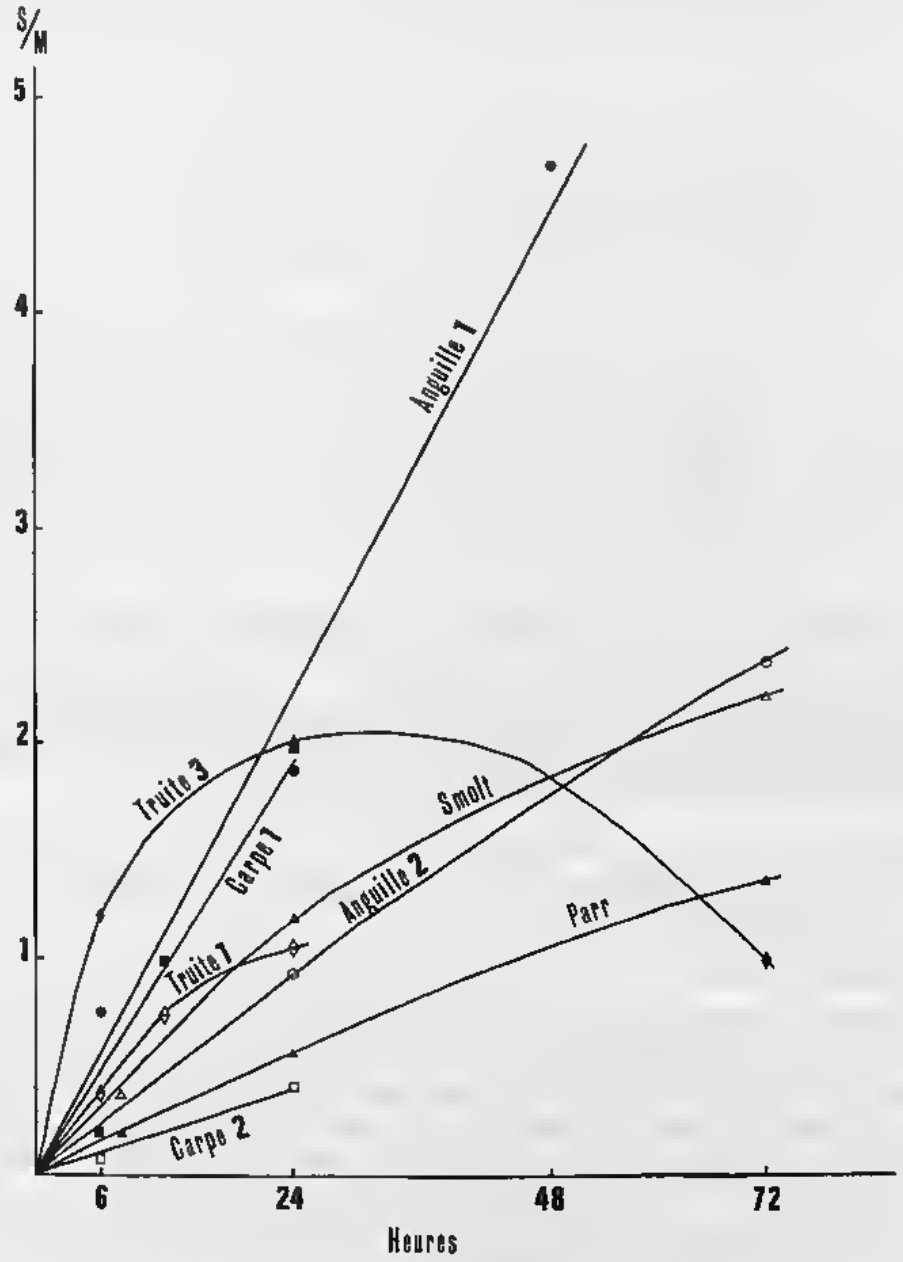


FIG. 1. — Cinétique de l'absorption d'iodure (^{131}I) chez divers Téléostéens d'eau douce. (Ordonnée : S/M : [^{131}I] sang/[^{131}I] milieu extérieur; le chiffre suivant le nom d'espèce indique le n° de série).

Il existe des variations importantes dans le niveau d'absorption de ^{131}I entre les divers lots d'une même espèce (tableau 3, fig. 1). Il n'est pas toujours possible de préciser l'origine de ces variations par suite de différences dans la provenance des poissons ou dans l'époque de l'expérience. Cependant, dans les cas où ces facteurs sont identiques, les conclusions suivantes peuvent être tirées. L'absorption d'iodure varie en fonction :

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 3

Absorption d'iodure chez les Téléostéens en eau douce

Espèce	Mois	Température °C	Poids moyen g	Nombre de poissons	S/M = ^{131}I par g. Sang / ^{131}I par ml d'eau						
					6 h	8 h	12 h	16 h	24 h	48 h	72 h
Saumon (parr).....	Avril	14	54	9	—	0,18	—	—	0,56	—	1,36
Saumon (smolt).....	Avril	14	54	9	—	0,37	—	—	1,18	—	2,22
Truite arc-en-ciel											
Série 1.....	Mars	14-15	50	16	0,39	—	0,74	—	1,05	—	—
Série 2.....	Mai	15	59,5	10	—	—	—	—	2,98	—	—
Série 3.....	Mai	21	26	9	1,20	—	—	—	2,00	—	0,98
Carpe											
Série 1.....	Nov.	13	222	6	0,18	—	0,98	—	1,97	—	—
Série 2.....	Nov.	14	891	8	0,06	—	—	—	0,42	—	—
Anguille											
Série 1.....	Déc.	13	83	8	0,76	—	—	—	1,86	4,71	—
Série 2.....	Déc.	13	42	10	—	—	—	—	0,94	—	2,38
Série 3.....	Fév.	14	43	5	—	—	—	8,11	—	—	—
Série 4.....	Mars	20	37,5	4	—	—	—	—	1,37	—	—
Série 4.....	Mars	8	45,6	5	—	—	—	—	0,43	—	—
Série 5.....	Avril	14	47	5	—	—	—	2,00	—	—	—
Série 6.....	Juin	15	67	7	—	—	—	—	2,73	—	—
Série 7.....	Sept.	14,5	310	10	—	—	—	—	1,19	—	—

I. De l'état physiologique

Le flux d'entrée d'iodure est deux fois plus élevé chez le *smolt* migrateur que chez le *parr* sédentaire dont le métabolisme et le niveau du fonctionnement endocrinien diffèrent considérablement (voir la revue de FONTAINE, 1964 *a*).

2. De l'âge du poisson

Le flux d'entrée est plus faible chez les grosses Carpes de 900 g (série 2) que chez les jeunes Carpes de 200 g (série 1).

3. De la température du milieu

Le flux d'entrée est trois fois plus élevé chez l'Anguille adaptée depuis deux semaines à 20° que chez celle adaptée à 8° (série 4).

Dans le cas des Truites des séries 1 et 2, provenant d'un même arrivage de la pisciculture, de poids voisins et expérimentées à la même température, l'augmentation d'un facteur trois du flux d'entrée, dans la série 2, peut être attribuée soit à une influence saisonnière, soit au régime alimentaire. En effet les Truites de la série 1 sont étudiées, à la fin de l'hiver, peu de temps après leur arrivée de la pisciculture où elles recevaient un aliment composé riche en iode, alors que les poissons de la série 2 sont étudiés, au printemps (mai), après deux mois et demi à un régime relativement pauvre en iode (viande de bœuf).

III. FLUX QUANTITATIF D'ENTRÉE D'IODURE

Il a été mesuré sur les deux lots de Carpes, deux lots d'Anguilles (séries 1 et 7) et deux lots de Truites (séries 1 et 2), tous étudiés entre 13 et 15°. La radioactivité moyenne du plasma (C) au temps t (24 heures) est calculée à partir de l'équation de la régression de C en fonction de t, établie en ne considérant que les temps pour lesquels la relation est linéaire. Afin de tenir compte des variations individuelles de poids des poissons, la radioactivité du plasma est rapportée, pour

Source : MNHN, Paris

chaque poisson, à 100 g de poids corporel. Lorsqu'un seul temps (24 heures) a été étudié (Truites, série 2, Anguilles, série 7), la radioactivité moyenne est utilisée pour le calcul du flux d'entrée. Ce procédé n'introduit pas d'erreur dans le cas de l'Anguille mais donne une valeur par défaut pour la Truite puisque la courbe n'est plus linéaire au-delà de 12 heures.

Les flux d'entrée sont du même ordre de grandeur chez les trois espèces étudiées (tableau 4) et varient de 0,1 à 0,4 µg par 100 g et par jour.

TABLEAU 4

Flux d'entrée d'iodure chez trois Téléostéens d'eau douce

Espèce	Poids moyen g	Flux d'entrée	
		µg I/24 h/100 g	nEq/h/100 g
Anguille (série 1)	83	0,273	0,090
Anguille (série 7)	310	0,200	0,065
Truite (série 1)	50	0,174	0,057
Truite (série 2)	59,5	0,416	0,136
Carpe (série 1)	222	0,295	0,097
Carpe (série 2)	891	0,101	0,033

Le flux d'entrée augmente en fonction de la concentration en $^{127}I^-$ du milieu. Chez des Truites du même lot et expérimentées en même temps que celles de la série 2, après 18 jours d'adaptation dans une eau renfermant 200 µg de I^- par litre, le flux d'entrée est d'au moins 3,1 µg par 100 g et par jour et probablement supérieur puisque le calcul est effectué uniquement à partir de la radioactivité du plasma à 24 heures, soit lorsque la courbe d'absorption n'est plus linéaire. Signalons que le flux sortant de I^- augmente avec la teneur en iode du milieu (LELOUP et FONTAINE, 1960).

Comme on pouvait s'y attendre, eu égard aux différences importantes de concentration d'un oligoélément comme I^- d'une part et d'électrolytes comme Cl^- et Na^+ d'autre part, dans les milieux extérieur et intérieur des Téléostéens, le flux entrant de I^-, qui s'exprime en dizaines de picoéquivalents par heure et par 100 g (tableau 4) est considérablement plus faible, 30 à 100 mille fois moindre, que les flux entrants d'électrolytes, lesquels sont de l'ordre du µEq par heure et pour 100 g (MAETZ, 1964; MOTAIS, 1967).

Ce flux d'iodure, quantitativement peu important, présente néanmoins un intérêt physiologique. Cet intérêt est évident chez les poissons, tels que le Saumon ou l'Anguille, subissant des périodes plus ou moins longues de jeûne physiologique, qui sont alors exclusivement tributaires de l'iodure du milieu extérieur. Lorsque la nourriture est très riche en iode (aliments composés du commerce), l'apport d'iode du milieu extérieur est peu important par rapport à l'iode alimentaire, qui peut atteindre 15 µg par 100 g et par jour, chez des Truites recevant un régime dont la teneur en iode est de 2,7 µg par g (JACOBY et HICKMAN, 1966).

Il n'en est plus de même avec d'autres régimes alimentaires, par exemple lorsque les Truites (série 2) sont alimentées avec de la viande de Bœuf : elles ingèrent par jour une quantité de viande équivalente à 4 p. 100 de leur poids corporel. Pour une teneur moyenne de 28 µg d'iode par Kg de viande [1], le poisson ingère 0,112 µg d'iode par 100 g et par jour, soit environ seulement le quart de la quantité absorbée à partir du milieu. Signalons, en outre, que ce flux entrant est largement supérieur aux besoins en iodure pour la biosynthèse des hormones thyroïdiennes, lesquels ont été évalués (LELOUP et FONTAINE, 1960) à 0,014 et 0,040 µg par 24 heures et par 100 g chez l'Anguille respectivement à 6,5 et 25° (flux entrant 0,200 et 0,273 µg à 13-14°) et à 0,175 µg chez la Truite à 17° à un régime pauvre en iode (flux entrant 0,416 à 13-14°).

1. D'après : Iodine Content of Foods, Chilean Iodine Educational Bureau London, 1952, p. 6.

Source : MNHN, Paris

Nous avons rappelé précédemment que les Téléostéens d'eau douce boivent de l'eau. Il importait donc de savoir si l'entrée d'iodure s'effectue uniquement avec l'eau ingérée ou si elle implique une autre voie. La quantité d'eau bue par l'Anguille, en eau douce, a été récemment mesurée (MAETZ et SKADHAUGE, 1968). Elle est en moyenne de 135 µl par heure et par 100 g à 20° chez des Anguilles pesant de 80 à 225 g (moyenne 150 g). Nous avons donc calculé, à partir de cette estimation, pour trois séries d'Anguilles de poids moyens respectifs de 47, 83 et 310 g, la quantité d'iodure absorbée par cette voie. Celle-ci représente de 4 à 8 p. 100 (moyenne : 6 p. 100) de la quantité totale d'iodure absorbée par les Anguilles. Encore ce pourcentage est-il surévalué puisque le flux entrant total serait beaucoup plus élevé si nos expériences étaient, comme celles de MAETZ et SKADHAUGE, réalisées à 20° au lieu de 13-14°. La quasi-totalité de l'iodure absorbé l'est donc par une autre voie que l'eau de boisson. En revanche, en eau de mer, l'Anguille boit 325 µl d'eau par 100 g et par heure (MAETZ et SKADHAUGE, 1968) représentant, pour une teneur moyenne de l'eau de 50 µg de I^- par l, un apport d'iode quotidien de 0,39 µg par 100 g, sensiblement équivalent au flux total d'entrée d'iodure chez l'Anguille d'eau douce.

IV. CONCLUSIONS

1. L'absorption d'iodure, chez les Téléostéens d'eau douce, varie en fonction de facteurs internes (âge, état physiologique du poisson) et de facteurs externes (température du milieu et éventuellement saison et teneur en iode du régime).

2. Chez les trois espèces étudiées à cet égard (Anguille, Truite et Carpe), à 13-15°, le flux entrant d'iodure varie de 0,10 à 0,40 µg de I^- par 100 g et par jour. Il augmente avec la teneur en iodure du milieu extérieur.

3. Le flux entrant d'iodure, seule source d'iode exogène chez les poissons subissant un jeûne physiologique, à certains stades de leur cycle vital, peut être, chez les poissons nourris, 4 fois supérieur à l'apport d'iode alimentaire.

4. La quantité d'iodure ingéré avec l'eau bue par le poisson représente moins de 6 p. 100 du flux entrant total. L'absorption d'iodure s'effectue donc essentiellement par une autre voie d'entrée.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE II

MISE EN ÉVIDENCE D'UN TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE

La peau des Téléostéens, recouverte d'écailles et de mucus, est pratiquement imperméable (Fromm, 1968). Le seul organe effecteur possible d'absorption de l'iodure est donc la branchie.

Maqsood et *al.* (1961) étudiant, *in vitro*, la fixation de ^{131}I par divers tissus de Truite arc-en-ciel, et notamment la branchie, observent que seuls les tissus de la mâchoire inférieure concentrent l'iodure (rapport : ^{131}I /g tissu /^{131}I /ml milieu : T/M = 1,54) par suite de la présence dans ces tissus des follicules thyroïdiens. Pour tous les autres tissus, le T/M est inférieur à l'unité, le T/M des filaments branchiaux étant égal à 0,836.

Hunn (1963), étudiant, *in vivo*, après 24 heures de séjour dans un bain de ^{131}I, la pénétration de l'iodure chez la Truite arc-en-ciel, mesure les rapports de concentration en ^{131}I : branchie/sang et sang/milieu, lesquels sont respectivement de 0,25 et 1,59. La valeur du rapport de concentration branchie/milieu, calculée d'après les données de Hunn, est 0,40 et ne semble donc pas mettre en évidence un processus actif de transport branchial de I^-. Cependant, cet auteur, observant, chez des Truites en eau distillée, un rapport sang/milieu de 6,3 et une diminution considérable de ce rapport en présence de thiocyanate, envisage un mécanisme branchial actif. Cette action de l'ion SCN^- peut toutefois résulter de l'inhibition par cet anion de la liaison de I^- avec une protéine plasmatique (Leloup, 1964*c*) intervenant dans l'absorption de l'iodure (Leloup, 1967*b* et 2e partie, chapitre 3).

Nous avons donc repris l'étude du problème du transport branchial éventuel de l'ion I^-, à la fois *in vivo* et *in vitro*, chez l'Anguille, la Truite arc-en-ciel et la Carpe (Leloup, 1968). Des expériences *in vitro* ont également été réalisées sur deux autres Cypriniformes : la Tanche et le Poisson-chat.

I. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Les expériences *in vivo* ont été effectuées sur des lots de poissons utilisés pour la mesure de l'absorption des iodures (*cf.* Tableau 3) : Truite, Série 1 et Série 2; Carpe, Série 1; Anguille, Série 1. Les conditions expérimentales (volume et température de l'eau, nombre et poids moyen des poissons) ont été précisées dans le chapitre I. Les poissons sont sacrifiés après 6, 12, 24 ou 48 heures de séjour dans le bain de ^{131}I. Après saignée, les branchies sont prélevées, lavées rapidement dans une solution saline isotonique, séchées sur papier filtre et les filaments branchiaux séparés de l'arc branchial et pesés. Les rapports de concentration : B/M = ^{131}I par *g* branchie/^{131}I par *g* milieu; S/M = ^{131}I par *g* sang/^{131}I par *g* milieu et B/S = ^{131}I par *g* branchie/^{131}I par *g* sang, sont calculés.

Dans les expériences *in vitro*, chaque branchie lavée, aussitôt après le prélèvement, dans une solution isotonique, est mise à incuber dans un bécher contenant 3 ml de la même solution, préalablement oxygénée, et additionnée de ^{131}I sans entraîneur, ou de ^{125}I sans entraîneur lorsqu'il s'agit de branchies provenant de poissons expérimentés *in vivo*. L'incubation est effectuée à l'air libre, à 16-17°, à raison de 90 agitations par minute, pendant 2 heures, temps nécessaire et suffisant pour obtenir une fixation maximale. Après incubation, les branchies sont traitées comme dans les expériences *in vivo* et le B/M mesuré. Pour chaque poisson, la valeur du B/M est la moyenne d'au moins 2 et souvent 3 ou 4 déterminations sur des branchies différentes.

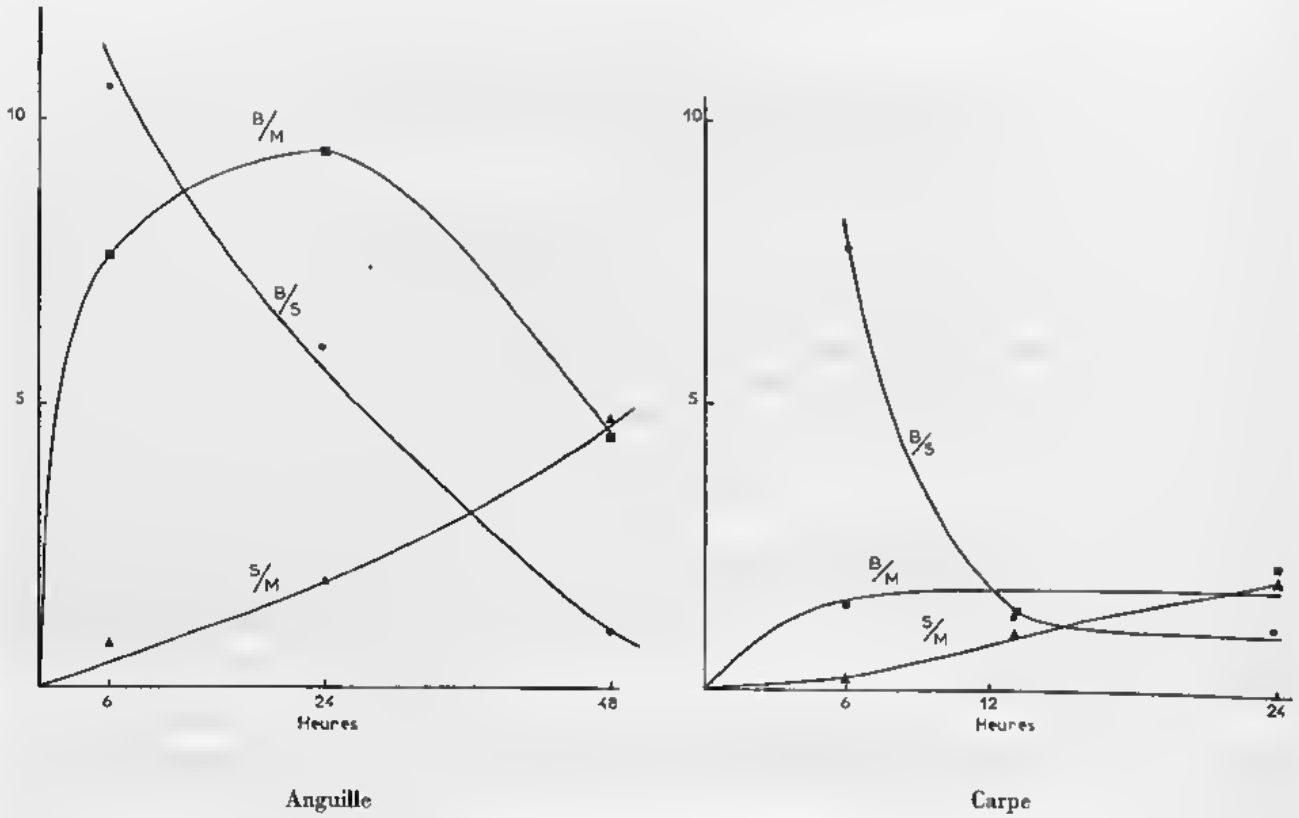
II. RÉSULTATS

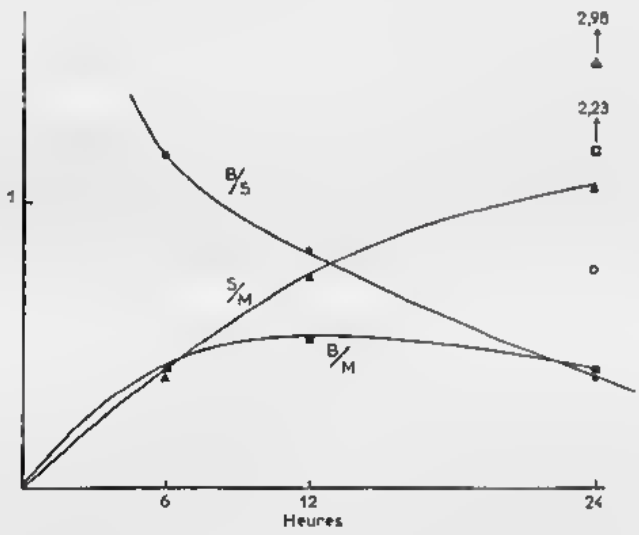
A. *IN VIVO*

L'évolution des trois rapports en fonction du temps (fig. 2) est analogue chez les trois espèces. Le B/M, après avoir atteint sa valeur maximale, se stabilise ou décroît plus ou moins vite. Le B/S, ∞ au temps $0 + \epsilon$, diminue rapidement, tandis que le S/M croît régulièrement. Cette cinétique traduit le transfert de l'iodure du milieu extérieur au sang après passage dans la branchie. Il existe toutefois des différences notables d'une espèce à l'autre dans les valeurs et l'évolution relative de ces trois rapports. Chez l'Anguille, le B/M est très élevé, près de 10, à 24 heures et jusqu'à 20 au même temps dans une autre série expérimentale, il n'est que de 1,5 à 2 chez la Carpe, 0,4 à 0,5 pour les Truites de la série 1 (soit du même ordre que la valeur calculée d'après les données de Hunn (1963) chez la même espèce) alors qu'il atteint 2,23 à 24 heures (seul temps étudié) pour les Truites de la série 2.

La cinétique du rapport B/S, qui traduit la vitesse du transfert de l'iodure de la branchie au sang, est intéressante à considérer. Dès 6 heures, chez la Truite, la radioactivité du sang est presque égale à celle de la branchie (B/S $\neq$ 1) et lui est ensuite toujours supérieure (B/S $<$ 1).

Source : MNHN, Paris





Truite, Série 1 : signes noirs, Série 2 : signes blancs

FIG. 2. — Cinétique du transport branchial de ^{131}I chez trois Téléostéens d'eau douce (B = [^{131}I] branchie, M = [^{131}] milieu extérieur, S = [^{131}]I sang).

Source : MNHN, Paris

A ce même temps (6 heures), la concentration en ^{131}I dans la branchie est respectivement 8 fois et 11 fois plus élevée que dans le sang chez la Carpe et l'Anguille et il faut attendre 24 heures ou plus (Carpe) et 48 heures (Anguille) pour observer une concentration égale dans la branchie et le sang. Il y a donc chez la Truite un passage beaucoup plus rapide dans le sang de l'iodure absorbé par la branchie.

En dépit des différences spécifiques considérables dans les valeurs du B/M, les variations de S/M sont de beaucoup plus faible amplitude. Ainsi, à 24 heures, le S/M est sensiblement identique chez l'Anguille et la Carpe et seulement 1,8 fois plus faible chez les Truites de la série 1 alors qu'à ce même temps, le B/M de l'Anguille et celui de la Carpe sont respectivement 24 et 6 fois plus élevés que celui de la Truite.

B. *IN VITRO*

Les valeurs moyennes du B/M sont nettement inférieures à l'unité chez les Cypriniformes, Carpe (0,32, limites de variation : 0,24-0,37); Tanche (0,42, limites de variation : 0,37-0,51); Poisson-chat (0,31, limites de variation : 0,25-0,36). Chez la Truite, le B/M moyen, 0,83 (limites de variation : 0,74-0,98) est identique à celui mesuré chez la même espèce par MAQSOOD et *al.* (1961). Par contre, pour un groupe de 46 Anguilles, ♂ et ♀, de taille et d'évolution sexuelle variées, le B/M moyen est égal à 2,89 et peut atteindre près de 10 (limites de variation : 0,59-9,75).

III. DISCUSSION

Les expériences *in vivo* mettent en évidence une concentration de l'iodure du milieu extérieur dans la branchie de l'Anguille, de la Carpe et de la Truite (série 2). L'hypothèse d'une fixation de I^- résultant de la présence de follicules thyroïdiens dans la branchie ne peut être écartée *a priori*, une telle localisation hétérotopique thyroïdienne ayant été signalée chez diverses espèces de Téléostéens (BAKER-COHEN, 1959; OLIVEREAU, 1960).

La nature spécifique du mécanisme branchial de concentration de l'iodure ressort des observations suivantes :

1. Les valeurs du B/M pour différentes branchies d'un même poisson sont très voisines, ce qui impliquerait, dans le cas de follicules thyroïdiens, une répartition ou une activité identique de ceux-ci dans chaque branchie, supposition assez peu vraisemblable;

2. Aucun follicule thyroïdien n'a jamais été observé dans les branchies d'Anguille (OLIVEREAU, communication personnelle), espèce présentant les valeurs du B/M les plus élevées;

3. La forme chimique de l'iode fixé dans la branchie et l'influence de certains agents chimiques sur le mécanisme de concentration des iodures (*cf.* chapitre 3) sont inconciliables avec l'hypothèse d'une origine thyroïdienne de la fixation d'iodure.

Pour des poissons, d'une même espèce et de poids analogues, la concentration de ^{131}I dans le sang (ou le S/M) à un temps donné est fonction de l'activité du mécanisme branchial d'absorption de l'iodure exprimée par la concentration en ^{131}I dans la branchie (ou le B/M). Ce dernier paramètre doit toutefois être mesuré à un temps relativement précoce, avant que sa valeur maximale soit dépassée. Ainsi, chez la Truite, à 24 heures, le B/M et le S/M sont beaucoup plus élevés (de 3 à 4 fois) dans la série 2 que dans la série 1; la corrélation entre le B/M et le S/M, pour l'ensemble des Truites des deux séries sacrifiées à 24 heures, est très significative ($r = + 0{,}931$, $dl = 16$, $P < 0{,}01$). De même, dans deux séries expérimentales de Carpes et d'Anguilles, le coefficient de corrélation entre le B/M et le S/M est respectivement de $+ 0{,}972$ ($dl = 10$, $P < 0{,}01$) et $+ 0{,}657$ ($dl = 26$, $P < 0{,}01$).

Inversement, la cinétique du B/S indique que ce rapport est d'autant plus faible chez la Carpe ou l'Anguille (le cas particulier de la Truite sera envisagé plus loin) que le transport branchial est plus intense. Ainsi, pour diverses séries expérimentales d'Anguilles (pimpeneaux de 40 g), la valeur moyenne du B/S à un même temps est respectivement de 1,14, 1,22, 3,06, 3,89 et 14,63 pour des S/M correspondants de 8,11, 2,00, 1,24, 0,94 et 0,43.

La similitude ou la faible différence du S/M à 24 heures d'une espèce à l'autre, traduisant un pouvoir d'absorption de l'iodure assez analogue, n'est pas en contradiction avec les variations importantes du B/M. La valeur de ce rapport, *in vivo*, est en effet fonction, non seulement de

Source : MNHN, Paris

l'activité intrinsèque du mécanisme branchial, mais également de la vitesse du transfert branchie-sang de l'iodure fixé, d'une part, et de la proportion des cellules branchiales actives dans le transport de I^-, d'autre part.

Le transfert branchie-sang est certainement influencé par la vitesse du flux sanguin dans les vaisseaux branchiaux. En l'absence de données relatives à ce facteur, il est impossible d'apprécier son intervention. Toutefois, la très grande rapidité du passage branchie-sang observée chez la Truite par rapport à l'Anguille ou à la Carpe ne peut résulter d'une différence de vitesse du flux sanguin. Elle suggère l'existence chez la Truite d'un mécanisme, qui accélère le transfert de l'iodure de la branchie au sang, et par conséquent influence le B/S, indépendamment de l'activité du transport branchial.

Le B/M est calculé pour la branchie totale. Or, seules, les cellules de l'épithélium de revêtement peuvent être impliquées dans le transport, à l'exclusion des cellules à pilastres, des cellules endothéliales et sanguines et du cartilage. Parmi les trois types cellulaires constituant cet épithélium : cellules respiratoires, cellules à mucus et « cellules à chlorure », il est très vraisemblable que les plus nombreuses, les cellules respiratoires, ne jouent aucun rôle dans la fixation de l'iodure, celui-ci étant dévolu à l'un ou l'autre des deux autres types (une étude histo-autoradiographique permettrait de préciser ce point) qui représentent une très faible fraction du potentiel cellulaire de la branchie. En faveur de cette hypothèse, remarquons que la valeur du B/M *in vitro* varie en raison inverse de la surface respiratoire branchiale; celle-ci augmente, en effet, pour des poissons de poids similaires, de l'Anguille à la Truite et de la Truite à la Carpe (Solewski, 1957; Byczkowska-Smyk, 1961; Czolowska, 1965). Le nombre des cellules actives par branchie peut également varier d'une espèce à l'autre et modifier encore leur proportion par rapport à la branchie totale. Des différences interspécifiques dans le nombre des « cellules à chlorure » ou des cellules mucipares ont été signalées; ainsi, par exemple, la branchie d'Anguille est généralement très riche en cellules mucipares (Camatini et Lanzavecchia, 1966). Il est donc probable que les valeurs faibles du B/M observées *in vivo* ou *in vitro* chez les Cypriniformes et la Truite résultent d'une faible densité des cellules concentrant l'iodure chez ces espèces.

Ces fluctuations interspécifiques de la densité des cellules concentrant l'iodure expliquent également les résultats apparemment contradictoires des expériences *in vivo* et *in vitro*, seule la branchie d'Anguille paraissant concentrer cet ion *in vitro*. Il est en effet certain que le B/M *in vitro* chez la Truite et les Cypriniformes serait très supérieur à l'unité s'il était possible de le calculer en ne considérant que la catégorie cellulaire impliquée dans le transport. Un B/M *in vitro* inférieur à 1 n'infirme donc pas l'existence d'un mécanisme de concentration des iodures. Remarquons d'ailleurs que :

a) Malgré la concentration évidente (jusqu'à 10 fois) de l'iodure démontrée *in vitro* dans la branchie d'Anguille, chez certaines Anguilles, le B/M est nettement inférieur à 1 alors qu'il peut pratiquement égaler 1 chez la Truite.

b) En dépit du pouvoir prééminent de la thyroïde de concentrer l'iodure, le T/M (^{131}I), *in vitro*, de régions thyroïdiennes de Truite comprenant, outre les amas dispersés de follicules thyroïdiens, une quantité importante de tissu non thyroïdien, n'est que de 1,5 (Maqsood et *al.*, 1961).

c) L'addition de thiocyanate au milieu d'incubation de tissus de Truite diminue le T/M (^{131}I) de la branchie de 0,84 à 0,61, valeur analogue à celle obtenue pour le tissu ébouillanté (0,59), alors que cet anion ne modifie pas le T/M d'autres tissus non thyroïdiens (muscle, rein, rate, cerveau, intestin, foie, estomac) (Maqsood et *al.*, 1961). Bien que Maqsood et *al.* n'aient pas considéré cette réponse particulière de la branchie de Truite au thiocyanate, réponse que nous avons confirmée (le B/M s'abaisse de 0,98 à 0,61 en présence de SCN^-), celle-ci est l'indice d'un pouvoir de fixation de l'iodure par la branchie de Truite, puisque nous montrerons plus loin (cf. chapitre 3) que le thiocyanate *in vivo* ou *in vitro* inhibe le transport branchial de cet ion.

Il existe donc bien dans la branchie des Télécostéens d'eau douce un mécanisme de concentration de l'iodure qui assure son absorption à partir du milieu extérieur. Toutefois, par suite des caractéristiques favorables présentées par la branchie d'Anguille, toutes les études, *in vitro*, de ce mécanisme ont été réalisées chez cette espèce. La mesure du B/M, *in vitro*, chez l'Anguille, permet d'ailleurs d'évaluer l'activité du transport branchial; il existe en effet une corrélation très significative entre les valeurs du B/M mesurées, *in vivo* (en présence de ^{131}I), et, *in vitro* (avec ^{125}I) chez 27 Anguilles ($r = + 0{,}634$, $P < 0.01$).

Source : MNHN, Paris

IV. CONCLUSIONS

1. L'étude *in vivo* chez la Truite, l'Anguille et la Carpe de l'évolution des rapports de concentration en ^{131}I, Branchie/Milieu (B/M), Branchie/Sang (B/S) et Sang/Milieu (S/M) en fonction du temps de séjour des poissons dans le bain de ^{131}I, montre que la branchie des Téléostéens d'eau douce est l'organe spécifique de l'absorption de l'iodure. Celle-ci implique une concentration de l'iodure du milieu extérieur dans la branchie ($B/M > 1$) suivie d'un transport de celui-ci dans le sang (courbe décroissante du B/S).

2. La concentration d'iodure dans la branchie ne peut être attribuée à la présenee éventuelle de follicules thyroïdiens hétérotopiques et le rôle spécifique de la branchie est démontré par la corrélation très significative, pour chaque espèce, et pour un temps donné, entre la concentration en ^{131}I dans la branchie et dans le sang. L'intensité du transport branchial d'iodure est proportionnelle au S/M et au B/M (lorsque ce dernier est mesuré avant que la valeur maximale soit atteinte) et inversement proportionnelle au B/S.

3. La très grande rapidité chez la Truite, par rapport à l'Anguille ou à la Carpe, du transfert branchie-sang de l'iodure, exprimée par un B/S très faible dès les premiers temps d'expérience, ne peut s'expliquer par une différence de vitesse du flux sanguin dans la branchie. Elle suggère l'existence, chez cette espèce, d'un mécanisme indépendant du transport branchial et intervenant pour accélérer le transfert branchie-sang.

4. *In vitro*, la valeur moyenne du B/M apparaît varier d'une espèce à l'autre en raison inverse de la surface respiratoire. Cette relation indique que l'épithélium respiratoire n'intervient vraisemblablement pas dans le transport d'iodure, celui-ci étant assuré par un autre type de cellules épithéliales (cellules mucipares, « cellules à chlorure ») représentant une faible fraction du potentiel cellulaire de la branchie. La densité relativement faible des cellules concentrant l'iodure dans la branchie de Truite et plus encore dans la branchie de Carpe, est vraisemblablement à l'origine des valeurs du $B/M < 1$ mesurées chez ces espèces et les rend peu souhaitables pour les études *in vitro*. En revanche, la plus forte densité de ces cellules dans la branchie d'Anguille se traduisant par un B/M généralement supérieur à 1 et pouvant atteindre 10, nous a conduit à choisir cette espèce pour étudier *in vitro* les variations physiologiques ou expérimentales de l'activité du transport branchial d'iodure. Il existe en effet une corrélation très significative entre les valeurs du B/M *in vivo* et *in vitro* chez l'Anguille.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE III

CARACTÉRISTIQUES DU TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE

La démonstration d'un transport branchial d'iodure conduit à s'interroger sur les caractéristiques de ce transport :

1. L'iode est-il concentré sous forme I^- ou sous une autre forme chimique? Demeure-t-il dans la branchie sous forme minérale ou est-il incorporé dans une molécule organique?

2. Le processus de concentration nécessite-t-il la présence de certains ions dans le milieu d'incubation et quels sont sa température et son pH optimaux?

3. Le transport peut-il être qualifié d'actif et, dans ce cas, est-il analogue au transport thyroïdien des iodures, lié au transport branchial des autres halogènes (Cl^- et Br^-), ou différent de ces deux types de transport?

4. Les variations de différents facteurs écologiques : salinité, équilibre ionique, température du milieu extérieur influencent-elles le transport?

I. NATURE DE L'IODE CONCENTRÉ DANS LA BRANCHIE

L'iode concentré dans la branchie est sous forme minérale. En effet, lorsque des branchies d'Anguille, incubées en présence de ^{131}I, sont broyées dans un réactif de précipitation des protéines (acide trichloracétique à 10 p. 100), puis lavées plusieurs fois dans le même réactif, la quasi-totalité de la radioactivité se retrouve dans le liquide surnageant. Cette expérience ne préjuge pourtant pas la forme minérale de l'iode fixé. Celle-ci est très probablement I^-. En effet, la radioactivité branchiale n'est pas extractible par le chloroforme ou le tétrachlorure de carbone, en milieu acide ou neutre, en présence d'iodure, ce qui exclut la possibilité de I_2 ou d'une forme oxyanion de l'iode : IO^-, IO_3^-, lesquelles donnent avec I^-, en milieu acide, I_2, qui passerait alors dans le solvant organique. Par contre, la majeure partie du radioiode passe dans la phase chloroformique ou tétrachlorique lorsqu'un homogénat de branchie est traité par un excès d'iodate, en milieu HCl N, ou par du nitrite de sodium, en milieu acide, qui oxydent I^- en I_2. Enfin, en chromatographie sur papier dans différents solvants (BAc, BEA), l'iode fixé se comporte comme I^- (cf. chapitre 4).

II. INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES

A. COMPOSITION IONIQUE DU MILIEU

1. Protocole expérimental

La concentration d'iodure dans la branchie d'Anguille, exprimée par le B/M, a été étudiée comparativement en tampon Krebs Ringer phosphate (KRP), en Krebs Ringer bicarbonate (KRB) et en solution physiologique, NaCl à 9 p. 1000, de pH 7,25. De plus, la composition ionique de ces milieux est dans certaines expériences modifiée par addition ou suppression de divers ions. L'incubation, dans le KRP ou NaCl, est réalisée en atmosphère 100 p. 100 de O_2 ou à l'air et, dans le KRB, en atmosphère à 93 p. 100 de O_2 et 7 p. 100 de CO_2. Le B/M est exprimé par rapport à la valeur obtenue en NaCl prise comme égale à 100.

2. Résultats (tableau 5)

Le B/M est nettement plus faible dans le KRP et encore plus faible dans le KRB. L'omission de Ca^{++}, de Mg^{++}, ou de ces deux cations, dans le KRP, ou le remplacement d'une partie de l'ion Na^+ par K^+, à une concentration 5 fois supérieure à celle des solutions de Krebs Ringer, n'influencent pas le B/M. L'inhibition observée avec le KRP et le KRB par rapport au NaCl ne peut donc pas être attribuée à la présence des ions K^+, Ca^{++} ou Mg^{++}, ni à celle des ions SO_4^{--} dont la concentration est pratiquement identique dans le KRP et le KRB, ni à celle des ions phosphates dont la concentration est beaucoup plus faible dans le KRB que dans le KRP, ni à celle de l'ion bicarbonate présent seulement dans le KRB. En fait, les valeurs inférieures obtenues en milieu KRP et KRB résultent de variations du pH. Nous montrerons en effet ci-après que le pH du milieu a une influence considérable sur la fixation branchiale des iodures. Or, en NaCl, non tamponné, le pH au cours de l'incubation s'abaisse de 7,25 à 6,7, tandis que, en milieu KRB, il s'élève à 7,7 et qu'en milieu KRP, il varie au plus de 0,1 unité. La comparaison des valeurs relatives du B/M pour ces différents pH finals (cf. fig. 3) avec celles obtenues dans les trois milieux montre une excellente concordance. La composition ionique du milieu d'incubation, pourvu qu'il soit isotonique, semble donc de peu d'importance. En conséquence, les incubations subséquentes

Source : MNHN, Paris

ont été réalisées soit en solution saline isotonique, soit plus généralement, notamment dans tous les cas où l'action d'inhibiteurs métaholiques ou thyroïdiens a été étudiée, en milieu KRP de pH 7,3, exempt de Ca^{++} et Mg^{++}.

TABLEAU 5

Influence de la composition du milieu d'incubation sur le B/M (^{131}I) de la branchie d'Anguille ($[I^-] = 5.10^{-6}$ M)

Milieu	B/M par rapport à NaCl = 100	
NaCl 0,154 M	100	100*
NaCl 0,120 M + KCl 0,027 M	—	93*
KRB	46	
KRP	74	
KRP sans Ca^{++}	74	
KRP sans Ca^{++} + Mg^{++}	61	
KRP sans Mg^{++}	73	

* ^{131}I sans entraîneur.

B. *pH*

1. Protocole expérimental

L'influence du pH du milieu d'incubation sur le transport branchial d'iodure a été étudiée entre pH 3,8 et 9,2. Les tampons choisis, préparés selon GOMORI (1955), sont : le tampon acide acétique-acétate pour les pH 3,8 à 5,6, le tampon phosphate pour les pH entre 5,7 et 8,0 et le tampon borax pour le pH 9,2. Les milieux d'incubation ont la composition suivante : NaCl 0,120 M; KCl 0,005 M; KH_2PO_4 0,0012 M; NaI 10^{-5} M et le tampon adéquat en quantité telle que la force ionique de tous les milieux soit peu différente : $\mu = 0{,}168$ à $0{,}175$. Au cours de l'incubation des branchies, le pH du milieu varie; il est donc mesuré à la fin de l'incubation et les valeurs trouvées seules considérées pour établir la courbe du B/M en fonction du pH. La variation, qui est de $\pm$ 0,05 à 0,1 unité pour les pH 5,0 à 7,6 est maximale pour tes pH extrêmes : — 0,25 unité pour pH 9,2 et + 0,35 pour pH 3,8.

2. Résultats (fig. 3)

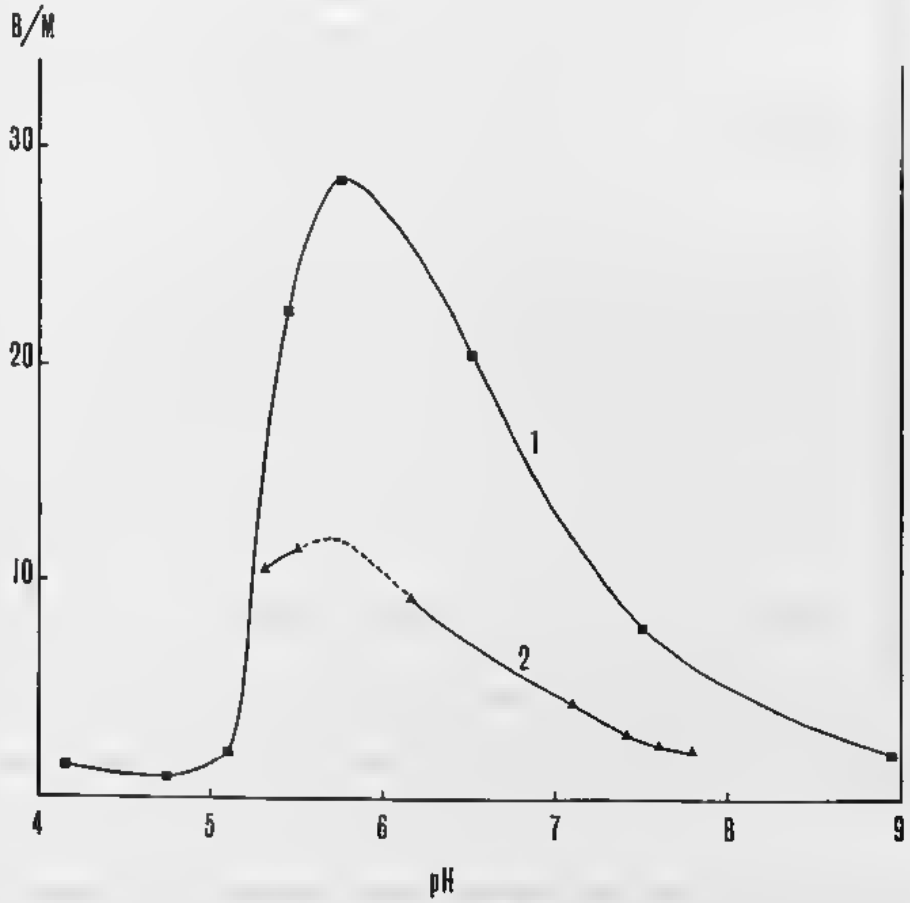


FIG. 3. — Influence du pH du milieu d'incubation sur le B/M (^{131}I) de la branchie d'Anguille ($[I^-] = 10^{-5}$ M).

Source : MNHN, Paris

Les deux expériences réalisées sur des branchies d'activités différentes donnent des résultats concordants. Le B/M, très faible aux pH les plus bas, qui entraînent macroscopiquement des altérations notables des filaments branchiaux (pH < 4,7), augmente brusquement au-dessus de pH, 5,0 pour atteindre sa valeur maximale à pH 5,75. Il décroît ensuite lentement lorsque le pH augmente et est voisin de 1,0 à pH 9.

C. TEMPÉRATURE

1. Protocole expérimental

L'influence du facteur température a été étudiée à 4, 10, 20, 25, 30 et 40 °C, dans le KRP, en présence de 5.10^{-8} M Na I. Afin d'éviter un choc thermique au tissu branchial, les branchies, prélevées sur des Anguilles séjournant à 12-15°, sont lavées après le prélèvement dans du NaCl à 9 p. 1 000 à 15° et mises à incuber dans du KRP à la même température. La température est progressivement abaissée ou augmentée en 30 minutes environ. Le radioiodure est ajouté au milieu lorsque la température choisie est atteinte. L'expérimentation aux diverses températures ne pouvant être réalisée simultanément sur les branchies d'une même Anguille, les incubations sont effectuées à 3 températures, dont toujours 20°, sur 2 ou 3 branchies d'un même poisson. Afin d'éliminer les variations individuelles du B/M, la valeur de ce rapport, mesurée pour chaque Anguille à 20°, est prise comme base 100 et les valeurs mesurées aux autres températures exprimées relativement au B/M à 20°. Auparavant, chaque valeur du B/M est diminuée de 0,30 pour tenir compte de l'entrée passive de l'iodure dans la branchie (*cf.* paragraphe III C, 3). Chaque point de la courbe représente la moyenne des valeurs obtenues sur 2 à 4 animaux (elles-mêmes déterminées sur 2 ou 3 branchies).

2. Résultats (fig. 4)

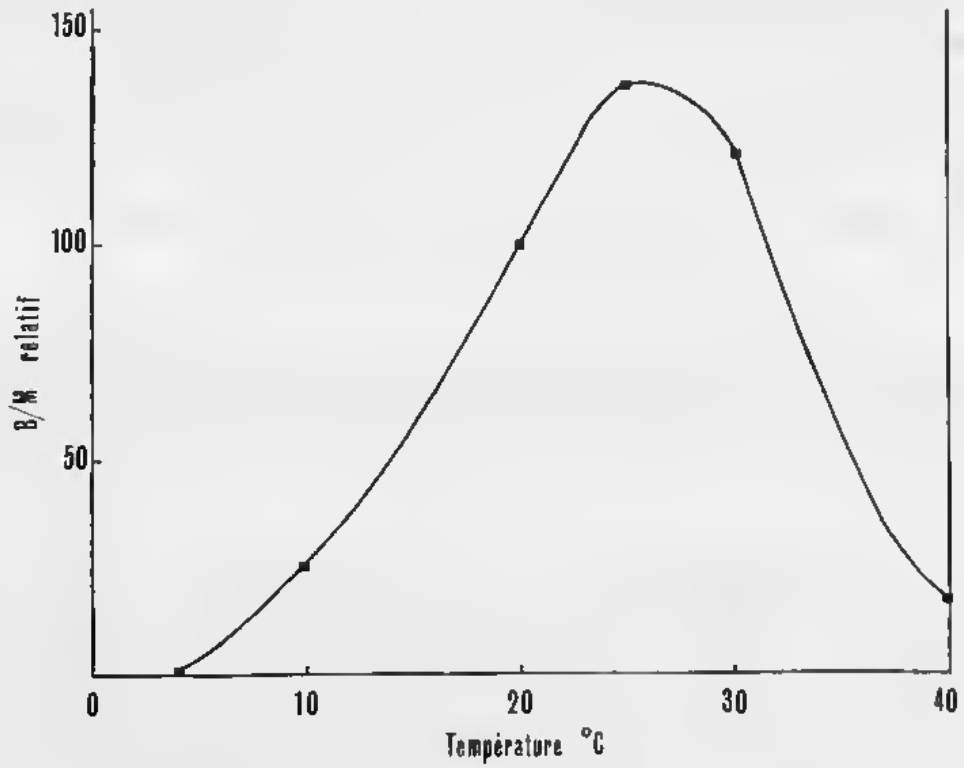


FIG. 4. — Influence de la température d'incubation sur le B/M (^{131}I) de la branchie d'Anguille (B/M à 20° = 100).

Le transport branchial d'iodure est presque totalement inhibé à 4 °C. Il augmente rapidement avec la température (le Q_{10} étant voisin de 3 entre 10 et 25°) pour atteindre sa valeur maximale

Source : MNHN, Paris

vers 25°. Le B/M décroît ensuite rapidement. Il est légèrement plus élevé à 30° qu'à 20° et faible à 40°, température à laquelle la branchie apparaît macroscopiquement lésée.

III. NATURE DU TRANSPORT

Le transport d'une substance ou d'un ion à travers une membrane biologique peut être passif ou actif. Un transport est souvent qualifié d'actif lorsque les autres possibilités d'explication : transport dans le sens d'un gradient de concentration, d'un gradient électrique ou par entraînement de solvant sont éliminées. Cependant, la plupart des auteurs s'accordent pour définir le transport actif comme un mouvement de l'ion contre un gradient électro-chimique impliquant la fourniture d'énergie par le métabolisme cellulaire (KOEFOED-JOHNSEN et USSING, 1960). Ces deux critères du transport actif seront considérés successivement.

A. GRADIENT ÉLECTROCHIMIQUE

1. Gradient chimique

Nous avons montré précédemment qu'il existe un gradient de concentration croissant en I^-, parfois très élevé, entre le milieu extérieur et le milieu intérieur des Téléostéens d'eau douce (*cf.* Introduction). Il en découle que le transport de I^- s'effectue contre un gradient de concentration :

— soit au niveau de la membrane externe de la cellule branchiale :
$[I^-]$ Branchie $>$ $[I^-]$ Milieu extérieur et $[I^-]$ Sang

— soit au niveau de la membrane interne de la cellule branchiale :
$[I^-]$ Branchie $<$ $[I^-]$ Milieu extérieur et $[I^-]$ Sang

— soit à la fois au niveau des membranes externe et interne de la cellule branchiale :
$[I^-]$ Milieu extérieur $<$ $[I^-]$ Branchie $<$ $[I^-]$ Sang.

Il est évident, d'après les expériences *in vitro*, qu'il existe, dans le cas de l'Anguille, un gradient de concentration croissant entre le milieu extérieur et la branchie. Le choix se limite donc entre la première et la troisième hypothèse. Afin de résoudre cette alternative, l'iodure (^{127}I) a été dosé simultanément dans le milieu extérieur, la branchie et le plasma d'Anguilles argentées. Les teneurs en iodure sont respectivement de 0,54, 6,9 et 5 µg p. 100 g pour l'eau, la branchie et le plasma; soit des rapports de concentration B/M = 12,8 et B/P = 1,38. Ces résultats confirment l'existence d'un gradient de concentration croissant, entre le milieu extérieur et la branchie, et mettent en évidence un gradient de concentration décroissant, entre la branchie et le plasma. Rappelons que ces rapports étant calculés pour la totalité du tissu branchial, alors que seules certaines cellules de la branchie interviennent dans le transport d'iodure, les gradients de concentration réels sont très supérieurs à ces valeurs. C'est donc la première hypothèse qui doit être retenue : le transport intervient au niveau de la membrane externe de la cellule branchiale.

Signalons que HUNN et REINEKE (1964), dans une étude d'équilibre isotopique réalisée sur des Truites arc-en-ciel, séjournant depuis 25 à 29 jours dans une eau contenant 10 µg I^- par litre, ont mesuré la teneur en iode de la branchie. Celle-ci est de 57 µg p. 100 g pour une iodurémie de 392 µg p. 100 g. D'après ces valeurs, le rapport en ^{127}I, Branchie/Plasma, serait égal à 0,16 et vraisemblablement un peu plus faible puisque c'est l'iode total, et non l'iodure, de la branchie qui est considéré. Il ne semblerait donc pas exister, chez la Truite, contrairement à l'Anguille, de gradient de concentration décroissant entre la branchie et le plasma. En fait, cette contradiction n'est qu'apparente. Nous montrerons, en effet, plus loin (*cf* 2e partie), que la majeure partie de l'iodure circulant chez la Truite est liée à une protéine sérique. Le B/P réel doit donc être calculé par rapport à l'iodure libre du plasma, seul échangeable avec la branchie, et il est alors, comme chez l'Anguille, supérieur à 1.

Source : MNHN, Paris

2. Gradient électrique

Les potentiels épithéliaux et transépithéliaux de la branchie d'Anguille ont été mesurés par Tosteson (1962) et par Maetz et Campanini (1966). D'après Tosteson, le potentiel cellulaire est toujours négatif par rapport au milieu extérieur et par rapport au sang. Maetz et Campanini observent une différence de potentiel de — 21 mV entre le sang de l'Anguille et le milieu extérieur. Le potentiel électrique à travers les membranes externe et interne de la cellule branchiale peut donc être représenté par le schéma de la figure 5. L'ion I^- serait donc transporté, au niveau de la membrane externe de la cellule branchiale, à la fois contre le gradient chimique et le gradient électrique. Au contraire, à la membrane interne, le transport s'effectuerait dans le sens du gradient électrochimique et serait donc passif.

Fig. 5. — Potentiels électriques transépithéliaux de la branchie d'Anguille en eau douce, d'après Tosteson (1962) et Maetz et Campanini (1966).

B. ACTIVITÉ MÉTABOLIQUE ET SOURCE D'ÉNERGIE

1. Protocole expérimental

Les besoins énergétiques du transport branchial d'iodure ont été étudiés en incubant des branchies en présence de divers inhibiteurs métaboliques. Chaque inhibiteur est dissous, à la concentration indiquée dans le KRP, et le B/M (diminué de 0,30, pour tenir compte de l'iodure pénétrant par diffusion) comparé en pourcentage à celui de branchies du même poisson incubées sans inhibiteur.

2. Résultats (tableau 6)

L'intégrité cellulaire et l'apport d'oxygène sont indispensables : la destruction des systèmes cellulaires par l'ébullition ou, l'anaérobiose (atmosphère de N_2), entraînent un arrêt total, ou presque total, du transport. Parmi les inhibiteurs respiratoires : amobarbital (amytal), antimycine A et cyanure qui bloquent respectivement les réactions de transfert d'électrons au niveau NAD-flavoprotéine, cytochrome *b*-cytochrome c_1, cytochrome *a*- cytochrome a_3, le premier est sans action tandis que les deux derniers sont inhibiteurs.

Le 2-4 dinitrophénol, agent découplant des phosphorylations oxydatives, et l'azoture, qui inhibe à la fois la respiration et les phosphorylations, empêchent totalement la concentration branchiale des iodures. Au contraire, le fluorure, inhibiteur de la glycolyse, est inefficace.

Ces résultats démontrent que l'intégrité de la chaîne respiratoire et du système de phosphorylation oxydative est nécessaire pour le transport d'iodure. Cependant, le manque d'effet de l'amytal indique que la voie succinoxydase du système de transport d'électron est suffisante et que

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 6

Influence d'inhibiteurs métaboliques et de l'ATP sur le transport branchial d'iodure (B/M témoin = 100), *in vitro*, chez l'Anguille

Inhibiteur	Concentration	Concentration ^{127}I	B/M
Ebullition	–	Sans entraîneur	10
Atmosphère N_2	–	5.10^{-6} M	3
Atmosphère N_2	–	1.10^{-5} M	0
Amobarbital	10^{-3} M	Sans entraîneur	100
Amobarbital	10^{-3} M	10^{-5} M	102
Antimycine	5 mg/l	10^{-5} M	40
Cyanure de Na	5.10^{-3} M	10^{-5} M	1
Fluorure de Na	10^{-3} M	Sans entraîneur	97
Azoture de Na	10^{-3} M	Sans entraîneur	0
2-4 Dinitrophénol	10^{-3} M	Sans entraîneur	2
2-4 Dinitrophénol	10^{-4} M	Sans entraîneur	2
2-4 Dinitrophénol	6.10^{-5} M	Sans entraîneur	26
2-4 Dinitrophénol + ATP	6.10^{-5} M $2.5.10^{-3}$ M	Sans entraîneur	132
Ouabaïne	10^{-4} M	Sans entraîneur	138

la première phosphorylation oxydative au niveau NAD-flavoprotéine n'est pas indispensable alors que les deux suivantes le sont.

Il paraît évident que l'adénosine triphosphate (ATP), dont la formation est bloquée par le dinitrophénol et l'azoture, est la source d'énergie impliquée dans le transport d'iodure. L'ATP est essentiellement fournie par les phosphorylations oxydatives puisque, en anaérobiose, la glycolyse est incapable de fournir la quantité d'ATP nécessaire. La démonstration directe du rôle de l'ATP est apportée par le fait que l'ATP, à la concentration de $2,5.10^{-3}$ M, en présence de dinitrophénol 6.10^{-5} M qui inhibe à 75 p. 100 le transport des iodures, rétablit celui-ci à un niveau supranormal (tableau 6). De plus, la fixation branchiale d'iodure, nettement diminuée chez l'Anguille hypophysectomisée (*cf.* Chapitre 5) est quadruplée en présence d'ATP $2,5.10^{-3}$ M.

En première approximation, il est donc permis de considérer que le transport branchial des iodures satisfait aux critères d'un transport actif :

1. I^- est transporté contre un gradient électrochimique;
2. Ce transport nécessite l'intégrité cellulaire et l'apport d'énergie sous forme d'ATP, celle-ci provenant des phosphorylations oxydatives;
3. Le transport a un coefficient de température élevé.

Trois hypothèses peuvent alors être proposées quant aux mécanismes de ce transport :

a) Analogie avec le transport thyroïdien des iodures;
b) Analogie avec le transport branchial d'autres halogènes : Cl^-, Br^-;
c) Mécanisme original de transport différent des deux précédents.

Afin de choisir entre ces diverses hypothèses, nous avons comparé les caractéristiques de ces transports.

C. COMPARAISON DU TRANSPORT BRANCHIAL ET DU TRANSPORT THYROÏDIEN DE L'ION I^-

Comme la thyroïde, de nombreux tissus de Vertébrés concentrent les iodures (BROWN-GRANT, 1961; LELOUP, 1964 *a*). Le mécanisme de concentration de I^- dans ces tissus extrathyroïdiens

Source : MNHN, Paris

présente des analogies remarquables avec le mécanisme thyroïdien (WOLFF, 1964). Chez les Téléostéens, par exemple, l'ovaire concentre I^- et ce processus, comme dans le cas de la thyroïde, est inhibé par les ions thiocyanate, perchlorate et le dinitrophénol, mais est insensible à la thiourée ou au thiouracile (LELOUP et FONTAINE, 1960; LELOUP, résultats inédits; LINDSAY et *al.*, 1966). Un mécanisme analogue à celui mis en évidence dans la thyroïde et l'ovaire des Téléostéens pouvait donc être envisagé pour la branchie.

Les caractéristiques communes des processus de concentration de I^- dans les tissus des Vertébrés ont été résumées par WOLFF (1964) d'après les travaux de nombreux auteurs et peuvent être ainsi énoncées :

1. Inhibition par des anions tels que SCN^-, ClO_4^-, BF_4^- et NO_3^-;
2. Concentration d'autres anions que I^-;
3. Inhibition par divers poisons : 2-4 dinitrophénol et glucosides cardiotoniques tels que l'onahaïne;
4. Néccssité de l'ion K^+;
5. Demi-saturation du mécanisme pour une concentration en I^- de l'ordre de 3.10^{-5} M;
6. Pas d'inhibition par les antithyroïdiens : sulfonamides, thiourée, tbiouracile, etc.

Nous avons constaté précédemment que le 2-4 dinitrophénol inhibe le transport branchial. Nous avons donc recherché si les autres caractéristiques du transport d'iodure dans les tissus des Vertébrés s'appliquaient également à la branchie.

I. Action de divers anions et antithyroïdiens

a) In vitro (Tableau 7) : La fixation de ^{131}I dans la branchie d'Anguille est inhibée par SCN^-, mais également par l'ion thiosulfate et la thiourée. Par contre, l'ion ClO_4^- est sans action, même à 10^{-3} M. Ces résultats ont été confirmés *in vivo* chez l'Anguille et la Truite arc-en-ciel.

TABLEAU 7

Influence de divers anions et antithyroïdiens sur le transport branchial d'iodure, *in vitro*, chez l'Anguille (B/M témoin = 100).

Inhibiteur	Concentration	Concentration en ^{127}I	B/M
Thiocyanate	10^{-2} M	Sans entraîneur	0
"	2.10^{-3} M	"	0
Thiourée	10^{-3} M	"	0
"	10^{-3} M	5.10^{-6} M	0
Thiosulfate	10^{-3} M	Sans entraîneur	1
Perchlorate	10^{-3} M	"	100
"	10^{-4} M	"	96
"	10^{-3} M	10^{-3} M	111
Ferrocyanure de K	10^{-3} M	Sans entraîneur	90
"	10^{-3} M	10^{-5} M	92

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 8

Influence de divers antithyroïdiens sur le transport branchial d'iodure, *in vivo*, chez l'Anguille et la Truite arc-en-ciel

Espèce	Traitement	Concentration	B/M	B/S	S/M
Anguille	Témoin (5)	–	2,35 ± 0,077	1,22 ± 0,12	2,00 ± 0,21
"	Thiourée (5)	1 g/l.	0,13 ± 0,026****	1,46 ± 0,41	0.10 ± 0,014****
"	Témoin (7)	–	4,17 ± 0,56	1,54 ± 0,17	2,73 ± 0,19
"	Perchlorate (7)	0,6g/l.	6,80 ± 0,82**	1,78 ± 0,21	3,89 ± 0,31***
"	Thiocyanate (8)	1g./l.	0,27 ± 0,009****	0,50 ± 0,019****	0,50 ± 0,012****
Truite	Témoin (8)	–	0,41 ± 0,037	0,39 ± 0,014	1,05 ± 0,11
"	Thiourée (8)	1g/l.	0,20 ± 0,006****	0,33 ± 0,013***	0,62 ± 0,029***
"	Perchlorate (8)	0,6 g/l.	0,57 ± 0,045**	0,94 ± 0,049****	0,63 ± 0,078***
"	Thiocyanate (4)	1g/l	0,14 ± 0,019****	0,70 ± 0,089****	0,21 ± 0,019****
Signification	* $p < 0,05$ ** $p < 0,02$ *** $p < 0,01$ **** $p < 0,001$				

b) *In vivo*

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : Un lot de Truites, à jeun depuis 12 jours, et pesant de 40 à 68 g, deux lots d'Anguilles ♂ de 45 à 95 g et de 38 à 60 g, sont répartis respectivement en quatre, trois et deux groupes. Chaque groupe est mis dans 25 litres d'eau de ville à 15 °C. Après 48 heures d'adaptation et renouvellement de l'eau, du thiocyanate de potassium (SCN^-), du perchlorate de sodium (ClO_4^-) ou de la thiourée sont dissous dans l'eau où séjournent trois groupes de Truites, deux groupes d'Anguilles du lot 1 et un groupe d'Anguilles du lot 2, de façon à obtenir des concentrations respectives de 1, 0,6 et 1 g par litre. Aussitôt après la dissolution des antithyroïdiens, 100 μc de ^{131}I sans entraîneur sont ajoutés à l'eau de tous les aquariums et les poissons sont sacrifiés 24 heures plus tard. En outre, les deux groupes d'Anguilles du lot 2 reçoivent, au début de l'expérimentation, une injection de 10 μC de ^{125}I sans entraîneur, dans la cavité générale.

RÉSULTATS (Tableau 8) : Chez l'Anguille, la thiourée et SCN^- inhibent l'absorption d'iodure. Le B/M et le S/M sont considérablement diminués, les différences avec les valeurs des témoins étant très hautement significatives ($P < 0,001$). ClO_4^-, non seulement n'a pas d'action inhibitrice, mais stimule significativement l'entrée des iodures, comme l'indiquent les augmentations du B/M et du S/M. Malgré la diminution d'un facteur 20 de l'absorption de I^- en présence de thiourée et l'effet de sens opposé en présence de ClO_4^-, dans les deux cas, le B/S n'est pas significativement modifié. Ces résultats confirment que le transport actif s'effectue au niveau de la membrane externe de la cellule branchiale, où interviennent inhibition ou stimulation, alors que le transport branchie-sang de I^- est passif, par simple diffusion. Remarquons cependant qu'en présence de thiocyanate, malgré une diminution du B/M du même ordre de grandeur qu'en présence de thiourée, le S/M est environ 3 fois moins diminué, de sorte que le B/S est significativement plus faible que chez les témoins. Cette différence peut résulter du fait que l'ion SCN^- bloque l'entrée d'iodure dans la thyroïde (ce qui n'est pas le cas pour la thiourée), entraînant ainsi une accumulation dans le sang de l'ion I^- ayant franchi la barrière branchiale.

Contrairement à son action inhibitrice sur l'absorption de l'iodure, la thiourée ne modifie pas l'excrétion totale et branchiale de celui-ci. Les témoins excrètent 9,8 p. 100 du ^{125}I injecté et les Anguilles traitées 8,65 p. 100; de plus, la radioactivité en ^{125}I du sang (Témoins : 1,21 ± 0,05,

Source : MNHN, Paris

thiourée : 1,31 ± 0,09 p. 100 de la dose par g de sang et par 100 g de poids corporel) et le B/S (^{125}I) (Témoins : 0,49 ± 0,012, thiourée : 0,50 ± 0,02) ne sont pas significativement différents.

Chez la Truite, comme chez l'Anguille, l'entrée de l'iodure est inhibée par SCN^- et la thiourée (B/M très significativement diminué) et stimulée par ClO_4^- (B/M augmenté). Des différences avec l'Anguille apparaissent cependant lorsque l'on considère les rapports B/S et S/M. D'une part, malgré l'augmentation du B/M avec ClO_4^-, le S/M est significativement plus faible et le B/S beaucoup plus élevé que chez les témoins. D'autre part, l'inhibition par SCN^- qui est une fois et demie celle de la thiourée pour le B/M, est environ 3 fois plus forte pour le S/M, et là encore, le B/S est très élevé. Cette augmentation du B/S chez les Truites traitées par ClO_4^- et SCN^-, conjuguée avec la diminution nette (ClO_4^-) ou considérable (SCN^-) du S/M, est un nouvel indice de l'existence déjà envisagée précédemment, chez la Truite, d'un mécanisme intervenant au niveau du transfert branchie-sang, lequel mécanisme serait sensible à ClO_4^- et SCN^-.

Rappelons qu'une inhibition de l'absorption de I^- (mesurée par le S/M) par SCN^-, administré en bain ou en injection, a également été observée par Hunn (1963), chez la Truite. Au contraire, l'injection de thiouracile, s'est révélée inefficace (Hunn, 1963). Cette différence entre le pouvoir inhibiteur considérable de la thiourée en bain (nos résultats) et l'inactivité d'un antithyroïdien analogue, le thiouracile, en injection, découle vraisemblablement du mode d'administration. L'action de l'antithyroïdien s'exerce, en effet, d'après nos résultats, au niveau de la membrane externe de la cellule branchiale; l'inefficacité du thiouracile injecté pourrait donc résulter de son incapacité à atteindre cette membrane externe, soit par suite d'une dégradation métabolique dans l'organisme, soit par impossibilité d'être excrété par la branchie.

2. Action de l'ouabaïne et des ions Na^+ et K^+

Le transport de l'iodure dans des coupes de thyroïde, mesuré par le T/M [I^-], est considérablement diminué lorsque l'ion Na^+ ou l'ion K^+ est omis dans le milieu d'incubation (Freinkel et Ingbar, 1955; Tyler et *al.*, 1968). Une relation linéaire entre le T/M [I^-] et la concentration en Na^+ du milieu a été démontrée (Iff et Wilbrandt, 1963; Alexander et Wolff, 1964). De même, le T/M [I^-] de la thyroïde et d'autres tissus concentrant les iodures augmente dans certaines limites en fonction de [K^+] (Wolff, 1960; Wolff et Maurey, 1961; Becker, 1961; Welch, 1962). La demi-stimulation maximale a lieu, dans le cas de la thyroïde, pour [K^+] = 0,9 à 1,4.10^{-3} M.

Les glucosides tonicardiaques, tels que l'ouabaïne, inhibent le transport des iodures dans la thyroïde et d'autres tissus : glande sous-maxillaire, glande mammaire (Wolff, 1960; Wolff et Halmi, 1963), le T/M [I^-] étant réduit de moitié pour des concentrations variant de 10^{-4} à 10^{-7} M selon les tissus. Cette diminution du T/M [I^-] peut être réduite par l'addition de K^+ au milieu (Wolff et Maurey, 1961). De ces résultats, Wolff (1964) conclut que l'ATPase dépendante de Na^+, K^+ et sensible à l'ouabaïne est indirectement impliquée dans le transport de l'iodure dans la thyroïde.

Nous avons montré plus haut que le B/M, *in vitro*, n'est pas modifié par des variations de [Na^+], ou lorsque le milieu est exempt de K^+, ou riche en ce cation (0,027 M). De plus, l'ouabaïne, à une concentration de 10^{-4} M, n'a aucune influence sur la fixation branchiale de l'iodure (tableau 6).

Le transport branchial de l'iodure ne paraît donc pas lié au transport de K^+ ou de Na^+, et à l'ATPase dépendante de Na^+, K^+, sensible à l'ouabaïne.

3. Saturation du mécanisme par l'iodure

Lorsque des coupes de thyroïde, ou de tissus mammaliens concentrant l'iodure, sont incubées en présence de concentrations croissantes de cet ion, la valeur du T/M [I^-] diminue graduellement jusqu'à la saturation (T/M inférieur à 1). La demi-saturation est obtenue, dans ces tissus, pour une concentration de 1 à 3.10^{-5} M (Wolff et Maurey, 1961). Nous avons obtenu des valeurs du même ordre de grandeur pour des tissus de poïkilothermes concentrant l'iodure : ovocytes ou chorde de Lamproie, ovocytes de Truite arc-en-ciel, dont le mécanisme de concentration paraît similaire à celui de la thyroïde (Leloup, *résultats inédits*).

La fixation branchiale de ^{131}I a été étudiée *in vitro* en présence de concentrations croissantes de NaI ou KI variant de 5.10^{-7} M à 10^{-2} M. Contrairement aux autres tissus concentrant l'iodure, le B/M augmente avec la teneur en iodure du milieu d'incubation, pour des concentrations en I^-

Source : MNHN, Paris

comprises entre 5.10^{-7} et 5.10^{-5} M; il peut atteindre des valeurs jusqu'à 13 fois supérieures à celles obtenues avec ^{131}I sans entraineur (tableau 9). Le B/M diminue ensuite graduellement, pour des concentrations égales ou supérieures à 5.10^{-5} M, et la saturation (B/M = 0,24 à 0,35) est obtenue à 10^{-2} M. La figure 6 donne un exemple de la courbe du B/M, en fonction de la concentration en ^{127}I du milieu pour la branchie d'Anguille et, à titre comparatif, les courbes obtenues pour les ovocytes de Truite et la thyroïde de Saumon.

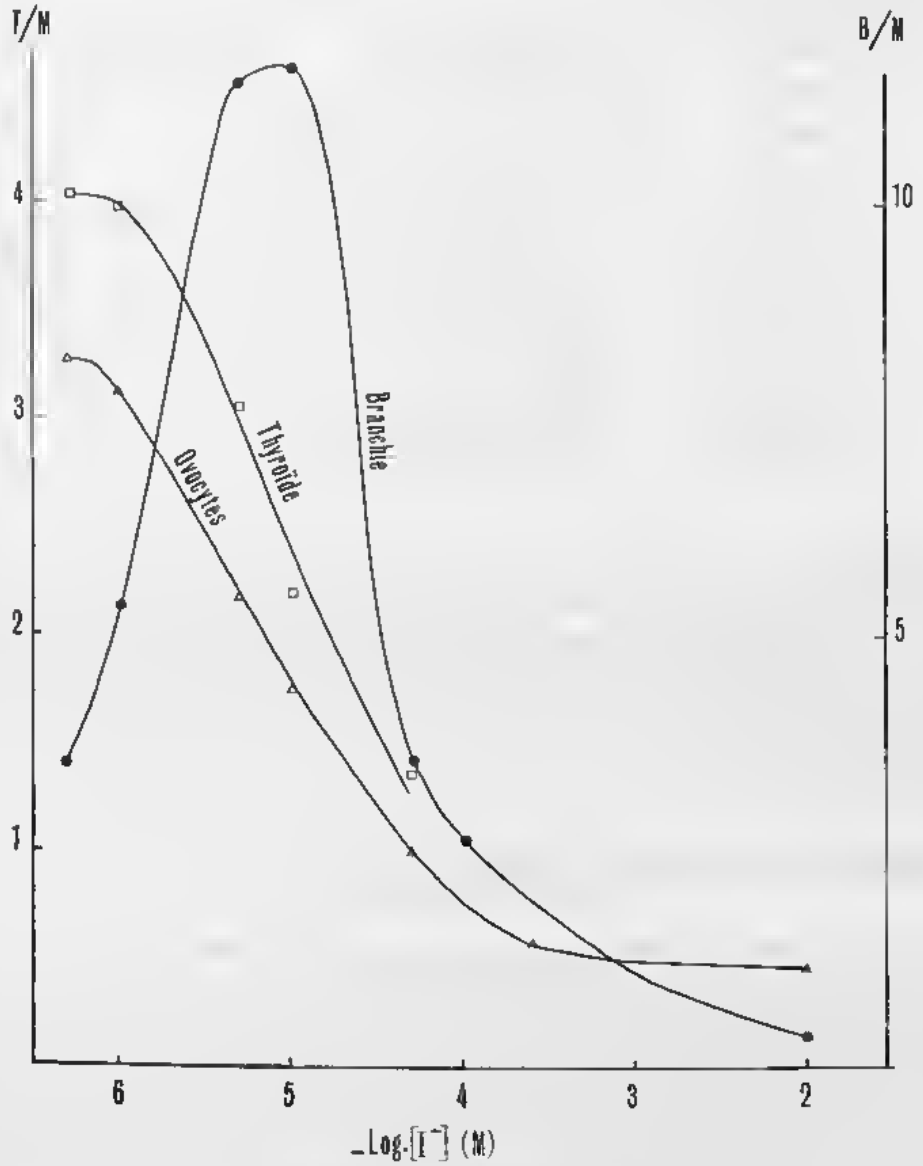


FIG. 6. — Variations du rapport [I⁻] tissu/[I⁻] milieu (T/M) pour les coupes de thyroïde de Saumon et des ovocytes de Truite et du B/M [I⁻] de la branchie d'Anguille en fonction de la concentration en I⁻ du milieu d'incubation à 16°.

La concentration de l'iodure fixé « activement » peut être calculée à partir du B/M [^{131}I] et de l'activité spécifique de l'iodure du milieu d'incubation, en tenant compte de la fraction du volume tissulaire occupée par l'iodure pénétrant par diffusion, laquelle est égale à la valeur du B/M pour la concentration de saturation en iodure, soit en moyenne 0,30. La concentration en ^{127}I par kg de branchie sera égale à :

$$[I] = (B/M - 0{,}30)\ [I_e]$$

Source : MNHN, Paris

I_0 étant la concentration en ^{127}I par litre de milieu à la fin de l'incubation, laquelle se déduit de la radioactivité de ce milieu à ce moment.

TABLEAU 9

Influence de la concentration en $^{127}I^-$ du milieu d'incubation sur le B/M de la branchie d'Anguille.

Concentration en ^{127}I	B/M					
^{131}I sans entraîneur	2.20	0.91	–	0.67	2.63	1.46
5.10^{-7} M	3.50	–	2.19	–	–	–
1.10^{-6} M	5.36	1.23	2.49	–	–	–
2.10^{-6} M	–	1.73	3,03	–	–	–
5.10^{-6} M	11.38	5,55	3,43	8,94	11.95	–
1.10^{-5} M	11.58	5,43	5,44	–	–	10,11
2.10^{-5} M	–	–	4,66	–	–	–
5.10^{-5} M	3.58	5,49	–	–	–	–
1.10^{-4} M	2.62	–	–	–	–	–
1.10^{-2} M	0.35	0,24	–	–	–	–

La concentration de l'iodure fixé « activement » dans la branchie peut atteindre des valeurs très élevées : 30 mg par kg pour une teneur du milieu de 5.10^{-6} M, 75 mg par kg pour une teneur de $2,5.10^{-4}$ M. Lorsque la concentration de l'iodure dans la branchie est portée graphiquement en fonction de la concentration en iodure du milieu externe, on obtient, non pas la courbe hyperbolique habituelle de HENRY MICHAELIS, mais une courbe sigmoïde (fig. 7). En portant graphiquement l'inverse de ces paramètres, selon la représentation de LINEWEAVER-BURK, la relation n'est pas linéaire comme dans le cas des autres tissus concentrant les iodures (*cf.* WOLFF et MAUREY, 1961) mais curviligne (fig. 12).

D. COMPARAISON DU TRANSPORT BRANCHIAL DE I^- ET DU TRANSPORT D'AUTRES HALOGÈNES : Cl^- ET Br^-

KNOCH (1937, 1939), avait suggéré que le transport branchial de Cl^- pouvait s'effectuer par échange des ions Cl^- contre des ions HCO_3^-. Cet échange anionique a été mis en évidence par MAETZ et GARCIA-ROMEU (1964) chez le Cyprin. Ces auteurs montrent que l'addition d'ions bicarbonate dans le milieu extérieur inhibe l'entrée de Cl^-, alors que l'injection de bicarbonate au poisson stimule l'entrée de Cl^-. Cet échange est dépendant de l'anhydrase carbonique qui fournit des ions HCO_3^- et H^+, car l'inhibition de cette enzyme entraîne une inhibition corrélative des échanges de Cl^- au niveau de la branchie (MAETZ et GARCIA-ROMEU, 1964). L'échangeur anionique serait, selon MAETZ (1964), susceptible d'échanger également l'ion Br^- et, à un moindre degré, l'ion I^-. Le transport branchial des iodures paraissant très différent du transport thyroïdien, l'hypothèse de MAETZ méritait d'être prise en considération.

Nous avons donc étudié l'effet, sur le transport de I^-, des ions HCO_3^-, d'une part, et d'un inhibiteur spécifique de l'anhydrase carbonique : l'acétazolamide ou 2-acétyl amino 1,3,4-thiadiazole 5-sulfonamide, d'autre part.

1. Action de l'ion HCO_3^-

Nous avons montré plus haut que la présence d'ions HCO_3^- dans le milieu d'incubation ne modifiait pas, par elle-même, le transport branchial de I^- chez l'Anguille. Une expérience *in vivo* a confirmé ce résultat.

Source : MNHN, Paris

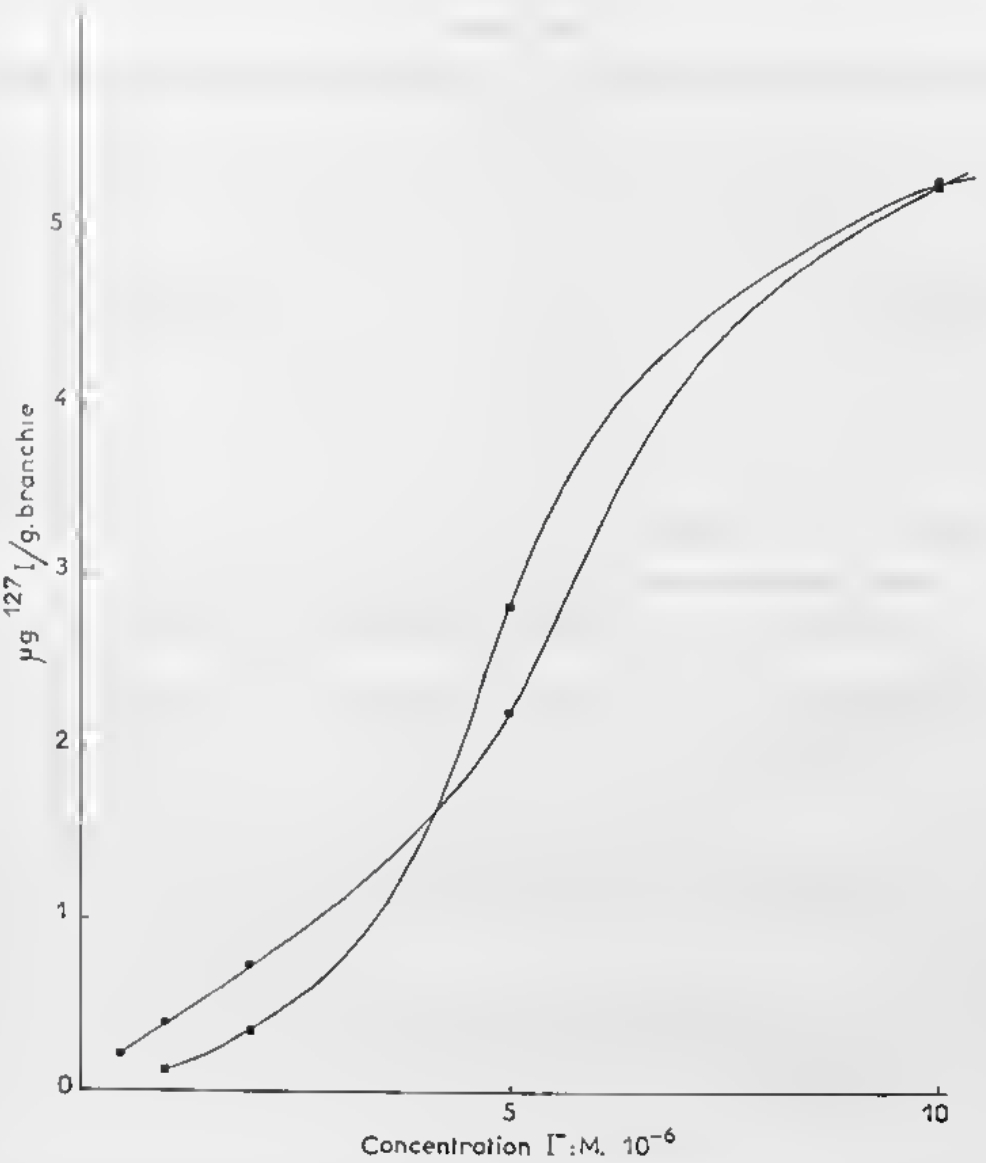


FIG. 7. — Variations de la concentration de I^- « fixé activement » dans la branchie en fonction de la concentration en I^- du milieu d'incubation.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : Après avoir reçu, dans la cavité générale, une injection de 10 µc de ^{125}I sans entraîneur, les Anguilles, d'un poids moyen de 45 g, sont immédiatement mises dans un bain de bicarbonate de sodium (15 litres) additionné de 100 µc de ^{131}I sans entraîneur. La concentration en $NaHCO_3$, 0,015 M, est voisine de celle utilisée par MAETZ et GARCIA-ROMEU (1964). Les Anguilles témoins sont dans un bain de NaCl, 0,015 M, (t = 14 °C). Les poissons sont sacrifiés après 18 heures de séjour dans le bain salin.

RÉSULTATS : L'ion HCO_3^- ne modifie pas le transport branchial de I^- : les B/M, B/S et S/M (^{131}I) ne sont pas significativement différents dans les deux groupes de poissons (tableau 14). L'excrétion totale et branchiale de ^{125}I n'est pas non plus affectée par l'ion bicarbonate (tableau 15).

2. Influence d'un inhibiteur de l'anhydrase carbonique : l'acétazolamide (Diamox)

— EXPÉRIENCES « IN VIVO »

a) *Anguille*

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : Des Anguilles pesant de 33 à 57 g reçoivent, dans la cavité générale, une injection de 0,1 ml d'une solution de Diamox à 10 p. 1 000 dans du NaCl à 8 p. 1 000 (soit 1 mg par animal) et une injection de 10 µc de ^{125}I sans entraîneur. Les témoins reçoivent une injection de solution physiologique. Les deux lots d'Anguilles sont mis aussitôt après les injections dans 15 litres d'eau de ville additionnée de 80 µc de ^{131}I sans entraîneur et sacrifiés 16 heures plus tard (t = 14 °C).

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 10

Influence de l'acétazolamide sur l'absorption branchiale d'iodure (^{131}I) *in vivo* chez l'Anguille et la Carpe

Espèce	Traitement	B/M	B/S	S/M
Anguille.	Témoin (5).....	7,36 ± 1,01	1,14 ± 0,15	8,11 ± 1,15
	Acétazolamide (6).....	8,45 ± 1,74	1,29 ± 0,17	6,70 ± 1,10
Carpe...	Témoin (4).....	0,13 ± 0,020	2,21 ± 0,42	0,061 ± 0,0075
	Acétazolamide (4).....	0,26 ± 0,039*	2,15 ± 0,16	0,120 ± 0,011***

TABLEAU 11

Influence de l'acétazolamide sur l'excrétion d'iodure (^{125}I) chez l'Anguille

Traitement	^{125}I/g sang/100 g corps/p. 100 de la dose	B/S
Témoin (5).....	0,44 ± 0,019	0,52 ± 0,016
Acétazolamide (6).....	0,46 ± 0,017	0,47 ± 0,018

RÉSULTATS (tableaux 10 et 11) : L'acétazolamide n'influence, ni l'absorption branchiale d'iodure, ni l'excrétion de ce dernier : les rapports B/S, B/M, S/M (^{131}I) et B/S (^{125}I), ainsi que la concentration en ^{125}I du sang, ne sont pas significativement différents chez les poissons traités et témoins. Cependant, l'impossibilité de mettre en évidence un transport branchial de Cl^- chez l'Anguille (KROGH, 1937; GARCIA-ROMEU et MOTAIS, 1966; MOTAIS, 1967) pouvait permettre de douter de la signification des résultats obtenus avec l'acétazolamide chez cette espèce. Une expérience analogue a donc été réalisée sur la Carpe, voisine du Cyprin, chez lequel l'absorption de l'ion Cl^- est bien démontrée.

b) *Carpe*

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : Des Carpes pesant de 660 à 1 100 g reçoivent en injection une dose de Diamox équivalente à celle administrée aux Anguilles, soit 20 mg par kilo, les témoins recevant une injection de solution physiologique. Les deux lots sont sacrifiés après 6 heures de séjour dans 60 litres d'eau (t = 17°) additionnée de 120 µC de ^{131}I sans entraîneur.

RÉSULTATS (tableau 10) : L'inhibiteur de l'anhydrase carbonique qui, chez le Cyprin recevant une dose équivalente, inhibe totalement le flux d'entrée de Cl^- (MAETZ et GARCIA-ROMEU, 1964), n'entraîne aucune inhibition du transport de I^-. Bien au contraire, le transport de I^- est nettement stimulé comme l'indiquent les rapports B/M et S/M qui sont significativement plus élevés que chez les animaux traités tandis que le B/S n'est pas modifié.

— EXPÉRIENCES « IN VITRO » (tableau 12)

L'acétazolamide à la concentration de 10^{-5} M, ne modifie pas le B/M de la branchie d'Anguille. Une inhibition nette apparaît à la concentration de 10^{-4} M et elle est presque totale à 10^{-3} M. Cet effet n'est cependant pas lié à l'action spécifique de l'acétazolamide sur l'anhydrase carbonique car un dérivé voisin de l'acétazolamide, le sulfathiazol, lequel n'est pas un inhibiteur de l'anhydrase carbonique, empêche également l'entrée d'iodure dans la branchie à la concentration de 10^{-3} M. Il est vraisemblable que cette inhibition est liée à la présence du groupement sulfonamide dans ces deux composés et résulte, comme nous l'indiquerons plus loin (*cf.* chapitre 4), d'une iodation du sulfathiazol et de l'acétazolamide.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 12

Influence de dérivés sulfamidés sur le B/M (^{131}I), *in vitro*, de la branchie d'Anguille (Témoin = 100)

Sulfamide	Concentration		
	10^{-3} M	10^{-4} M	10^{-5} M
Acétazolamide	2 (2)	50 (4)	118 (4)
Sulfathiazol	6 (2)	—	—

De toutes ces expériences, il ressort que le transport des iodures s'effectue par un mécanisme tout à fait différent de celui de Cl^- et sans relation directe avec l'anhydrase carbonique et un échange avec les ions HCO_3^-.

E. INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS ÉCOLOGIQUES

1. Influence du changement de salinité du milieu extérieur

La branchie des Téléostéens eurybalins est capable d'adapter ses échanges d'électrolytes en fonction de la salinité du milieu. En eau douce, elle absorbe activement les ions Na^+ et Cl^- tandis qu'en eau de mer elle excrète activement ces mêmes ions. Il importait donc de savoir si l'inversion fonctionnelle des échanges d'électrolytes, déterminée par le transfert d'eau douce en eau salée et associée d'ailleurs, chez l'Anguille, à une inversion des potentiels électriques transépithéliaux (MAETZ et CAMPANINI, 1966) modifiait le transport branchial de l'iodure. Signalons que HUNN (1963) a mis en évidence une diminution de l'absorption de l'iodure chez la Truite lorsque celle-ci est mise dans une solution de NaCl hypertonique (12,7 p. 1 000), le S/M, égal à 1,59 en eau douce, s'abaisse à 0,79 en milieu salin.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : Deux expériences ont été réalisées. Une dose de 100 µC de ^{131}I sans entraîneur est ajoutée au milieu externe après 3 jours d'adaptation des Anguilles à une salinité de 17,5 p. 1 000 de NaCl (Expérience 1) ou après 21 jours de séjour à la salinité de 20 p. 1 000 (Expérience 2), le milieu étant renouvelé chaque semaine (t = 13-14°, volume d'eau : 20 litres). Les poissons sont sacrifiés 24 heures après l'addition de ^{131}I, en même temps que des témoins en eau douce. Dans l'expérience 2, deux Anguilles adaptées à l'eau de mer sont transférées en eau douce au moment de l'addition de ^{131}I. Afin de ne pas modifier sensiblement la teneur en iodure du milieu hypertonique, par rapport à l'eau douce, l'eau salée est préparée à partir de NaCl pour analyses. Dans les deux expériences, des branchies prélevées sur les Anguilles de chaque groupe expérimental sont incubées en présence de ^{131}I sans entraîneur dans du NaCl à 9 p. 1 000 (Expérience 1) ou du KRP (Expérience 2).

RÉSULTATS (tableau 13) : L'adaptation à l'eau salée entraîne une inhibition du mécanisme branchial de transport de l'iodure, l'effet étant d'autant plus important que l'adaptation a été plus longue. Le B/M est diminué considérablement, d'un facteur 5 après 3 jours d'adaptation et d'un facteur 30 après 21 jours. De même, le S/M est diminué significativement d'un facteur 7 après 3 jours d'adaptation et d'un facteur 14 après 21 jours. Cependant, malgré ces variations du B/M et du S/M, le rapport B/S n'est pas significativement modifié dans les deux séries. Ce fait indique que l'inhibition en milieu hypertonique intervient au niveau de la concentration de I^- dans la branchie, mais que l'épuration par le sang de l'iodure branchial n'est pas affectée, en accord avec l'hypothèse d'un transfert passif branchie-sang.

Le transfert d'eau salée en eau douce, au début de l'addition de ^{131}I au milieu, détermine une reprise du transport d'iodure s'exprimant par l'augmentation importante du B/M et du S/M. Cependant ces rapports sont encore respectivement 2 fois et 5 fois plus faibles, que chez les poissons adaptés à l'eau douce. Le B/S en revanche est très élevé. Les valeurs relatives du B/M, B/S et S/M chez les Anguilles transférées, traduisent une situation du transport analogue à celle observée chez les Anguilles en eau douce, après environ 6 heures de séjour dans le bain radioactif (*cf.* fig. 2), c'est-à-dire B/M relativement élevé, B/S très élevé et S/M faible. Il apparaît donc que, lors du transfert en eau douce d'une Anguille adaptée à l'eau salée, il y a un temps de latence assez long, 18 heures environ, avant la reprise du transport d'iodure.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 13

Influence du changement de salinité du milieu extérieur sur le transport branchial d'iodure chez l'Anguille

Milieu	In vivo (^{131}I)			In vitro (^{125}I)
	B/M	B/S	S/M	B/M
Expérience 1				
Eau douce (5)	3,35 ± 0,96	3,06 ± 0,76	1,24 ± 0,45	2,00 ± 1,21
Eau salée (5) (3 jours)	0,68 ± 0,29*	4,11 ± 0,99	0,18 ± 0,036*	0,88 ± 0,45
Expérience 2				
Eau douce (5)	9,43 ± 2,87	3,50 ± 0,75	1,86 ± 0,42	1,19 ± 0,17
Eau salée (6) (21 jours)	0,32 ± 0,022***	3,17 ± 0,77	0,13 ± 0,018***	0,48 ± 0,055***
Transfert d'eau salée en eau douce (2)	4,61	15,66	0,35	

Les expériences *in vitro* sur les branchies de ces mêmes Anguilles confirment les résultats obtenus *in vivo*. L'inhibition de la concentration d'iodure dans les branchies d'Anguilles adaptées à un milieu hypertonique est évidente et la différence des B/M est très significative ($P < 0,01$), dans la deuxième série, où l'adaptation a été plus longue.

2. Influence d'un déséquilibre cationique du milieu

Dans les expériences de changement de salinité rapportées ci-dessus, seule la concentration des ions Na^+ et Cl^- a été modifiée. Or, dans l'eau de mer, il y a également augmentation de la concentration d'autres ions, et notamment de Ca^{++} et Mg^{++}. Nous avons donc étudié l'influence d'une augmentation de concentration de ces cations. L'effet d'une augmentation de l'ion NH_4^+ a également été recherché car, chez les Téléostéens en eau douce, le transport actif de Na^+ par la branchie résulte d'un échange NH_4^+/Na^+ et il est inhibé par l'addition d'ions NH_4^+ dans le milieu externe (MAETZ et GARCIA-ROMEU, 1964).

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : Les Anguilles appartienent au même lot que celles utilisées pour étudier l'action de l'ion HCO_3^- et le protocole expérimental (volume et température de l'eau, doses de ^{131}I et ^{125}I, temps de sacrifice) est identique à celui adopté dans cette expérience (cf. ce chapitre, Section D1). Les trois cations : NH_4^+, Ca^{++} et Mg^{++}, sont ajoutés au milieu extérieur sous forme de chlorure afin d'obtenir, pour chacun d'eux, une teneur de 15 mEq par litre, identique à celle de l'ion Na^+ dans le milieu des Anguilles témoins (NaCl, 0,015 M). Dans tous ces milieux très hypotoniques au milieu intérieur, la concentration en Cl^- est donc identique, la seule différence résidant dans le cation.

RÉSULTATS : Aucun des trois cations n'affecte l'excrétion totale et branchiale de ^{125}I (tableau 15). Tous les groupes excrètent environ 10 p. 100 de la dose et la radioactivité en ^{125}I du sang ainsi que le B/S (^{125}I) ne sont pas significativement différents de ceux mesurés chez les témoins.

L'ion NH_4^+ ne modifie pas le transport de l'iodure (tableau 14); celui-ci est donc indépendant du transport de Na^+. Au contraire, dans les conditions d'expérience choisies, les ions Mg^{++} et Ca^{++} influencent l'absorption des iodures (tableau 14) :

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 14

Influence de différents ions dans le milieu extérieur sur l'absorption d'iodure (^{131}I) chez l'Anguille

Traitement	B/M	B/S	S/M
Témoin (NaCl : 0,015M) (5).....	2,35 ± 0,077	1,22 ± 0,12	2,00 ± 0,21
NH_4Cl : 0,015 M (3).....	2,69 ± 0,18	1,28 ± 0,14	2,13 ± 0,13
$MgCl_2$: 0,0075 M (5).....	3,93 ± 0,31***	2,01 ± 0,23**	2,04 ± 0,26
$CaCl_2$: 0,0075 M (5).....	6,25 ± 0,42****	1,89 ± 0,28*	3,70 ± 0,76*
$NaHCO_3$: 0,015 M (5).....	2,26 ± 0,096	1,33 ± 0,09	1,71 ± 0,12

TABLEAU 15

Influence de différents ions dans le milieu extérieur sur l'excrétion d'iodure (^{125}I) chez l'Anguille

Traitement	p. 100 dose ^{125}I/g sang pour 100 g corps	B/S (^{125}I)	Excrétion (p. 100 dose)
Témoin (NaCl : 0,015 M).....	1,21 ± 0,05	0,49 ± 0,012	9,8
NH_4Cl : 0,015 M.....	1,22 ± 0,13	0,52 ± 0,048	10,5
$MgCl_2$: 0,0075 M.....	1,12 ± 0,15	0,49 ± 0,021	11,5
$CaCl_2$: 0,0075 M.....	1,33 ± 0,16	0,45 ± 0,037	10,0
$NaHCO_3$: 0,015 M.....	1,33 ± 0,05	0,47 ± 0,012	9,2

1. En présence de Mg^{++}, le B/M et le B/S sont significativement augmentés, mais le S/M n'est pas modifié.

2. Avec Ca^{++}, les trois rapports sont significativement augmentés par rapport aux témoins et le B/M et le S/M le sont également par rapport aux Anguilles dans le bain de $MgCl_2$.

L'augmentation du B/M semble indiquer une stimulation du mécanisme branchial de concentration de l'iodure, plus importante avec Ca^{++} qu'avec Mg^{++}. Cependant, cette stimulation n'entraîne pas de modifications du S/M dans le cas de Mg^{++} et une augmentation proportionnellement moindre de ce rapport (comparée à celle du B/M) dans le cas de Ca^{++}. Cette opposition résulte de l'augmentation du B/S qui est significative et pourrait donc traduire une inhibition du transfert de I^- de la branchie au sang.

Ces résultats sont apparemment en contradiction, d'une part avec ceux de HUNN (1963) et, d'autre part, avec nos résultats *in vitro* relatifs à l'influence de la composition ionique du milieu. HUNN, dans une étude *in vivo* de l'absorption de l'iodure chez la Truite arc-en-ciel dans différents milieux : eau distillée, eau de ville, NaCl à 6 p. 1 000 et Ringer à 66 p. 100, observe que le B/M est plus élevé en eau distillée ($Ca^{++} = 0$) qu'en eau de ville ($Ca^{++} = 2{,}6$ mEq/l) et plus élevé en NaCl à 6 p. 1 000 ($Ca^{++} = 0$) qu'en Ringer à 66 p. 100 ($Ca^{++} = 8{,}6$ mEq/l). Il en conclut que l'ion Ca^{++} inhibe l'absorption de l'iodure. Il est permis d'objecter à cette conclusion que l'ion Ca^{++} n'est pas le seul élément variable, Cl^- varie d'un milieu à l'autre, l'eau de ville contient un certain nombre d'ions absents des autres solutions, le Ringer est riche en K^+ alors que les autres milieux en contiennent peu (eau de ville) ou pas du tout (eau distillée, NaCl à 6 p. 1 000), enfin la teneur en I^- varie également. C'est ainsi que l'absorption plus importante en eau distillée qu'en eau de ville peut résulter uniquement de l'activité spécifique plus élevée de I^- dans l'eau distillée. De plus, l'absorption est identique en eau de ville contenant Ca^{++} et en NaCl à 6 p. 1 000 qui n'en contient pas. Une conclusion valable ne peut être tirée des résultats de HUNN quant à l'action de Ca^{++}.

Les expériences *in vitro* montrent que le B/M n'est pas modifié en absence ou en présence de Ca^{++} (1,3 mEq) ou Mg^{++} (1,2 mEq), donc que ces cations ne semblent pas influencer direc-

Source : MNHN, Paris

tement le mécanisme branchial de transport d'iodure. La divergence entre l'action stimulante *in vivo* et l'indifférence *in vitro* pourrait s'expliquer, soit par la concentration 11 fois plus élevée en cations dans les expériences *in vivo*, soit par une action indirecte de ces cations sur le mécanisme branchial. En faveur de cette dernière hypothèse, rappelons que ÉTIENNE (1959) a montré que des Truites, mises dans un bain de $CaCl_2$ ou de $MgCl_2$ de concentration trois fois supérieure à celle utilisée ici, présentaient, 48 heures plus tard, à 12°, une hyperactivité thyroïdienne (augmentation très importante et significative de la hauteur épithéliale, résorption de la colloïde), plus importante avec Ca^{++} (hauteur épithéliale triplée) qu'avec Mg^{++} (hauteur épithéliale doublée). Cette hyperactivité thyroïdienne résulte d'un déséquilibre minéral car elle n'apparaît plus si le milieu extérieur est équilibré en cations monovalents et bivalents. Or, nous montrerons plus loin que le transport branchial d'iodure est contrôlé par la sécrétion thyroïdienne. La stimulation branchiale pourrait donc être la résultante de la stimulation thyroïdienne. Dans cette hypothèse, l'absence de variation du S/M avec Mg^{++} et l'augmentation proportionnellement plus faible du S/M par rapport au B/M avec Ca^{++} pourrait s'expliquer par une augmentation de la clearance thyroïdienne de l'iodure sanguin, qui masquerait ou diminuerait l'augmentation du S/M et corrélativement augmenterait le B/S. Signalons d'ailleurs que l'ablation des corpuscules de Stannius, qui entraîne une hypercalcémie chez l'Anguille (FONTAINE, 1964 *b*) détermine également une activation thyroïdienne (LELOUP et LELOUP-HATEY, 1964).

3. Température du milieu extérieur

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : Des Anguilles adaptées pendant 2 semaines, respectivement à 8° et 20°, dans 15 litres d'eau renouvelée régulièrement, sont sacrifiées 24 heures après l'addition de ^{131}I à l'eau des aquariums.

RÉSULTATS (tableau 16) : Le transport branchial est ralenti à basse température : le B/S est significativement plus élevé et le S/M significativement plus faible à 8°; le B/M n'est pas différent à 20 et à 8° car, à haute température, la courbe de ce paramètre est vraisemblablement déjà dans sa phase descendante. Ces résultats *in vivo* confirment donc l'action du facteur température observée *in vitro*. Il est cependant possible qu'à l'action propre de la température se surajoute, *in vivo*, une intervention de la thyroïde, l'activité de cette glande étant stimulée par la température chez l'Anguille (LELOUP, 1958 *b*).

TABLEAU 16

Influence de la température sur le transport branchial d'iodure (*in vivo*) chez l'Anguille

Température d'adaptation	B/M	B/S	S/M
8 °C	6,01 ± 1,82 (4)	14,63 ± 2,82*	0,43 ± 0,06***
20 °C	6,99 ± 1,53 (4)	5,37 ± 1,39	1,37 ± 0,19

IV. DISCUSSION

L'absorption branchiale d'iodure est un phénomène actif. Au contraire, la sortie d'iodure peut être considérée comme passive puisqu'elle s'effectue selon le gradient électrochimique. En accord avec cette théorie, l'excrétion branchiale d'une dose de ^{125}I n'est pas modifiée, comme l'indique la constance de la radioactivité sanguine et du B/S (^{125}I) (cf. paragraphe III C 1 et tableaux 11 et 15) lorsque, à la suite d'un traitement *in vivo*, l'entrée d'iodure est inhibée, stimulée ou inchangée. De même, nous avons constaté, *in vitro*, que la sortie dans le milieu d'incubation du ^{131}I préalablement concentré, *in vivo*, dans la branchie, n'est pas significativement différente quelle que soit l'activité du mécanisme branchial de concentration (mesurée *in vivo* ou *in vitro*) résultant de l'état physiologique des animaux ou des conditions expérimentales.

***

Source : MNHN, Paris

Les mécanismes de transport branchial de I^- et de Cl^- sont différents, mais il semble néanmoins exister une certaine interférence entre eux puisque, chez la Carpe, lorsque le transport de Cl^- est bloqué par l'acétazolamide, le transport d'iodure est doublé tandis que, chez l'Anguille, incapable d'absorber Cl^-, l'acétazolamide ne modifie pas le transport de I^-. De plus, en milieu hypertonique qui induit une inversion du transport des électrolytes, la branchie excrétant désormais Na^+ et Cl^-, l'absorption d'iodure est inhibée. Ces faits indiquent peut-être que le même type de cellules branchiales est impliqué dans le transport d'iodure et dans le transport des électrolytes. Il pourrait s'agir, dans cette hypothèse, des cellules spécialisées de KEYS et WILLMER, appelées encore cellules à chlorure, dont le rôle double dans l'absorption et l'excrétion des électrolytes, bien qu'il soit dénié par certains (*cf.*, Revue de PARRY, 1966), est très probable d'après d'autres auteurs (GETMAN, 1950; OGAWA, 1962; PHILPOTT et COPELAND, 1963; PHILPOTT, 1965). Remarquons que le transport d'ions contre un gradient de concentration implique une source d'énergie, ATP, d'origine essentiellement mitochondriale. Or, de toutes les cellules épithéliales branchiales, seules, les cellules à chlorure sont riches en mitochondries, que le poisson soit en eau douce ou en eau de mer (DOYLE et CORECKI, 1961; PHILPOTT et COPELAND, 1963; STRAUS, 1963; JOZUKA, 1966). De plus, le changement de milieu s'accompagne d'une modification de l'aspect et de l'ultrastructure de ces cellules (KESSEL et BEAMS, 1962; PHILPOTT et COPELAND, 1963; THREADGOLN et HOUSTON, 1964). Enfin, l'adaptation en eau de mer du poisson euryhalin, *Fundulus heteroclitus* entraîne une augmentation considérable (6 à 10 fois) de l'ATPase Na^+, K^+ activée, dans les branchies et les pseudobranchies (EPSTEIN et *al.*, 1967), augmentation intéressant probablement surtout les cellules spécialisées puisque la pseudobranchie est essentiellement constituée par ce type de cellules (COPELAND, 1947; PARRY et HOLLIDAY, 1960). Cette augmentation de l'ATPase, qui implique une utilisation accrue d'ATP, est en accord avec l'accroissement des flux d'électrolytes en eau de mer.

Dans l'hypothèse de l'absorption de I^- assurée par les cellules spécialisées, il est concevable que les importants remaniements structuraux et fonctionnels, déterminés dans ces cellules par l'adaptation à l'eau de mer, affectent le transport de I^-. La persistance de l'inhibition de la fixation de I^-, lorsque la branchie d'Anguille adaptée à l'eau salée est incubée dans un milieu isotonique, plaide en faveur d'une modification cellulaire et contre l'hypothèse d'une diminution de l'affinité du « transporteur » pour I^-, en eau de mer, puisque celle-ci devrait redevenir normale *in vitro* et donc le transport de I^- être rétabli. En revanche, les faits observés peuvent s'interpréter en admettant un arrêt de la synthèse du « transporteur » en eau de mer : l'inhibition de la fixation de I^-, déjà nette après 3 jours en eau de mer, correspondrait à une diminution importante de la quantité du « transporteur » par suite de son non-renouvellement et l'inhibition considérable après 20 jours en eau de mer, à la disparition totale de celui-ci; inversement, le délai d'environ 18 heures observé lors du transfert d'eau de mer en eau douce, dans la reprise du transport de I^-, représenterait le temps nécessaire à la synthèse du « transporteur ». Dans cette éventualité, quel serait le mécanisme de l'inhibition de la synthèse du « transporteur ». A titre d'hypothèse, il est possible d'envisager une action directe ou indirecte (hormonale par exemple) de la teneur en électrolytes du milieu intérieur sur le répresseur réglant la synthèse du « transporteur ». On sait en effet que, chez l'Anguille, adaptée à l'eau de mer, la natrémie et la chlorémie sont nettement plus élevées qu'en eau douce (SHARRATT et *al.*, 1964; OIDE et UTIDA, 1967) et que la pression osmotique influence la sécrétion de prolactine par des hypophyses en survie de Téléostéens (SAGE, 1966).

***

Le transport branchial d'iodure se différencie du transport thyroïdien d'iodure par de nombreux caractères :

1. Son insensibilité à l'ouabaïne et à l'absence d'ion K^+ dans le milieu d'incubation;

2. Son insensibilité à l'absence d'ion Ca^{++} dans le milieu d'incubation alors que le T/M $[I^-]$ de coupes de thyroïde diminue de 50 p. 100 dans un milieu sans Ca^{++} (ALEXANDER et WOLFF, 1964);

3. Son insensibilité à l'amytal alors que ce dernier diminue le T/M $[I^-]$ de coupes de thyroïde de 40 p. 100 environ (TYLER et *al.*, 1968);

Source : MNHN, Paris

4. Son insensibilité à l'ion ClO_4^- et, au contraire, son inhibition par la thiourée ou le thiosulfate. Remarquons que cette action inhibitrice des deux composés soufrés n'est pas due à leur caractère réducteur puisqu'un autre agent réducteur, le ferrocyanure, est sans effet sur la concentration branchiale de I^- (tableau 7);

5. La saturation du mécanisme de transport suit un processus différent de celui observé pour la thyroïde ou d'autres tissus concentrant les iodures. Le B/M au lieu de diminuer régulièrement en fonction de la concentration en $^{127}I^-$ du milieu, augmente d'abord et ne commence à diminuer que pour une concentration de 1 à 5.10^{-5}M, qui représente, pour la thyroïde ou les autres tissus extrathyroïdiens, le K_M (diminution de 50 p. 1000 du T/M[I^-]) (Wolff, 1964). La relation entre la concentration d'iodure (^{127}I) dans la branchie et la concentration d'iodure (substrat) dans le milieu s'exprime par une courbe sigmoïde, et non par un arc d'hyperbole, dans la représentation ordinaire, et par une courbe, et non une droite, dans la représentation graphique de Lineweaven-Burk. Le processus de concentration d'iodure dans la branchie ne peut donc être décrit par l'équation de Michaelis-Menten correspondant à une relation monomoléculaire. La courbe sigmoïde indique qu'au moins deux molécules de substrat se lient avec une molécule de « transporteur » et que la liaison d'une molécule de ligand (^{127}I) facilite la liaison d'une autre molécule de ligand, en d'autres termes, qu'il y a un effet « coopératif » dans la liaison de plus d'une molécule de substrat. Cette cinétique particulière est caractéristique des systèmes allostériques (Monod et *al.*, 1963; Monod, 1966). Une protéine allostérique pourrait donc être impliquée dans le transport branchial d'iodure. Les variations considérables de la fixation branchiale de I^- en fonction du pH peuvent être interprétées en faveur de cette hypothèse puisque les systèmes allostériques sont fortement influencés par ce facteur (Atkinson, 1965).

Il n'est pas sans intérêt de comparer la réponse du transport branchial aux divers inhibiteurs métaboliques et agents chimiques utilisés dans cette étude avec les effets de ces mêmes composés (lorsqu'ils ont été essayés) sur le transport de I^- dans les différents tissus de Vertébrés concentrant cet anion, ainsi que chez divers Invertébrés et chez les Végétaux, notamment les Algues. Les données de la littérature sont rassemblées dans le tableau 17. Dans ce tableau, les divers tissus de Vertébrés (branchie exceptée) n'ont pas été considérés isolément. En effet leur réponse aux inhibiteurs et agents chimiques s'est révélée (lorsqu'elle a été étudiée) identique à la réponse thyroïdienne.

Il existe un certain nombre de points communs à tous les mécanismes de fixation des iodures. Tous sont inhibés, en anaérobiose, par le 2-4 dinitrophénol et par le cyanure, ce qui implique que tous nécessitent l'intégrité du métabolisme oxydatif et des phosphorylations oxydatives, donc dépendent de la production d'énergie, vraisemblablement de l'ATP. Tous sont également inhibés par SCN^-, ce qui n'entraîne pas nécessairement que le mécanisme d'action de cet ion soit identique dans tous les cas. En effet, SCN^- est un inhibiteur compétitif du transport d'iodure dans la thyroïde et d'autres tissus de Vertébrés mais il inhibe également l'organification de l'iode, soit *in vivo*, soit *in vitro*, dans les tranches de thyroïde (Greer et *al.*, 1966), soit dans des systèmes acellulaires (Pitney et Fraser, 1953; Wyngaarden et Stanbury, 1955; Tong et Chaikoff, 1955; Alexander, 1959). Cette action sur l'organification de l'iodure n'est pas due à la diminution du substrat (I^-) déterminée par l'inhibition de sa fixation, puisqu'elle est aussi nette en présence de quantités de ^{127}I importantes (Greer et *al.*, 1966). SCN^- interférerait donc avec l'oxydation des iodures, préalable à leur incorporation dans la molécule organique. Cette action est possible parce que le potentiel d'oxydo-réduction du couple :

$$SCN^- \rightleftharpoons 1/2\ (SCN)_2 + e^- = +\ 0{,}77 \text{ volt}$$

est proche de celui de l'iodure (Wolff, 1964) :

$$I^- \rightleftharpoons 1/2\ I_2 + e^- = +\ 0{,}535 \text{ volt}$$

L'oxydation de SCN^- en SO_4^{--} par le tissu thyroïdien a été démontrée (Wood et *al.*, 1947; Maloof et Soodak, 1959) et elle est parallèle à celle de l'iodure dans sa réponse aux inhibiteurs du système oxydatif et à la stimulation (TSH) ou la mise au repos (hypophysectomie) de la thyroïde (Maloof et Soodak, 1966). L'inhibition de la fixation des iodures par SCN^-, générale pour tous les tissus ou organismes concentrant ceux-ci, peut donc résulter de deux mécanismes différents intervenant seuls ou successivement, inhibition compétitive du transport de I^- ou inhibition de l'oxydation des iodures. Signalons que, dans la thyroïde, l'inhibition du transport apparaît pour des concentrations en SCN^- nettement inférieures à celles efficaces sur l'oxydation de I^- (Greer et *al.*, 1966).

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 17

Influence comparée de divers inhibiteurs métaboliques ou agents chimiques sur le transport de l'iodure chez les végétaux et les animaux

Espèces	Références	Anaérobiose	2,4 Dinitrophénol	Cyanure	Azoture	Thiocyanate	Perchlorate	Thiourée	Thiouracile	Sulfathiazol	Thiosulfate	Métabisulfite ou sulfite	Ouabaïne
ALGUES													
Rhodophyta													
Gracilaria tolifera	1	+											
Rhodymenia palmata	2					+	+	+					
Phaeophyta													
Laminariales													
Laminaria flexicaulis	3		+			+	0	+					0
Laminaria digitata	4	+				+		0					
Nereocystis luetkeana	5	+		+	0	+	0		+	+		+	
Fucales													
Ascophyllum nodosum	6	+		+	+								
Fucus coranoides	7		+	+		+	+		0		0		
Fucus vesiculosus	8												0
Fucus serratus	2					+	+	+					
Chlorophyta													
Enteromorpha compressa	2,3						0						0
Enteromorpha intestinalis	2,3						0						0
Ulva sp.	9		+			+	0	+					
Monostroma oxycoccum	2					+	+	+					
Charophyta													
Nitella	5			+		+			+				
Chara globularis	10						+						0 ?
MONOCOTYLEDONES													
Zostera nana	2					+		+					0
DICOTYLEDONES													
Callitriche aquatica	10		+			+	+	+					0?
BRYOZOAIRES													
Bugula neritina	3,9		+			+	0	+					+ (10^{-3} M)
MOLLUSQUES													
Mytilus galloprovincialis	9					+		+					
VERTEBRES													
Branchie (Anguille ou Truite)	11	+	+	+	+	+	0	+		+	+		0
Thyroïde	12	+	+	+	+	+	+	0	0	?	0		+

Références. — 1. GUTKNECHT (1965). — 2. ROCHE et ANDRÉ (1966 *b*). — 3. ANDRÉ (1965). — 4. SHAW (1959). — 5. TONG et CHAIKOFF (1955). — 6. KELLY (1953). — 7. KLEMPERER (1957). — 8. WOLFF (1960). — 9. ROCHE et ANDRÉ (1965). — 10. ROCHE et ANDRÉ (1966 *a*). — 11. LELOUP (ce travail). — 12. WOLFF (1964).

Des différences apparaissent entre les tissus concentrant I^- lorsque l'on considère leur réponse à d'autres inhibiteurs ou composés chimiques et ces différences opposent généralement la thyroïde et les tissus extrathyroïdiens des Vertébrés d'une part et les tissus d'Invertébrés et de Végétaux d'autre part, la branchie de Téléostéens d'eau douce appartenant à ce second groupe. Ainsi :

Source : MNHN, Paris

a) L'ouabaïne inhibe le transport thyroïdien des iodures mais est sans action sur le transport branchial ou chez les Végétaux, Algues notamment; elle n'a qu'un très léger effet sur un Bryozoaire, *Bugula*, et à concentration élevée (10^{-3} M), alors qu'elle est active sur la thyroïde de Mouton à beaucoup plus faible concentration (inhibition de 50 p. 100 pour 3.10^{-7} M) (Wolff, 1960).

b) Le thiouracile ou la thiourée n'inhibent pas le transport thyroïdien mais sont inhibiteurs chez les Végétaux, les Invertébrés et dans le cas de la branchie. Le seul résultat négatif a été rapporté pour une Algue, *Fucus ceranoides*, chez laquelle le thiouracile est inactif. Cependant, la thiourée est inhibitrice chez un autre *Fucus*. Il est donc possible que cette inefficacité du thiouracile résulte d'une trop faible pénétration par suite de la faible solubilité de ce produit. Ce point nécessiterait une nouvelle étude.

La réponse à d'autres inhibiteurs n'est toutefois pas identique chez les divers Invertébrés, Végétaux et dans la branchie. Ainsi, ClO_4^-, inactif sur la branchie, sur des Phaeophyta (Laminariales), des Chlorophyta (*Enteromorpha*, *Ulva*) et chez *Bugula*, est inhibiteur, chez d'autres Phaeophyta (Fucales) et Chloropbyta (*Monostrema*), chez une Rhodophyta, une Charophyta et une Dicotylédone. De plus, le thiosulfate, inhibiteur pour la branchie et une Laminaire, est inefficace sur une Fucale.

Il semble donc que le mécanisme de transport des iodures ne soit pas univoque dans le monde vivant. En particulier, l'action inhibitrice de la thiourée et du thiouracile, conjuguée à l'inefficacité d'un anion pleinement oxydé tel que ClO_4^-, peut impliquer une oxydation des iodures préalable à leur pénétration dans la cellule, suivie d'une réduction à l'intérieur de celle-ci puisque, chez les Algues, comme dans la branchie, l'iode minéral concentré est sous forme I^-. Un tel mécanisme a été proposé par Shaw (1959) pour une Algue brune, *Laminaria digitata*. Shaw étaie son hypothèse sur les données expérimentales suivantes :

a) Les agents chimiques, qui réagissent avec I_2 (thiocyanate, thiosulfate, métabisulfite) pour donner I^-, ou se combinent avec I_2 (pyruvate, tyrosine), empêchent l'apparition de I_2 lorsque de l'iodure est ajouté à l'eau de mer baignant l'Algue et stoppent le transport d'iodure.

b) L'anaérobiose bloque simultanément la formation de I_2 et le transport d'iodure.

c) Lorsque l'oxydation de I^- est inhibée, et donc la fixation d'iodure, l'addition de I_2 dans le milieu détermine une reprise très nette de l'accumulation de I^- dans l'Algue.

Les résultats de Tong et Chaikoff (1955) sur *Nereocystis* (inhibition de la fixation de I^- par le thiouracile et le sulfite) sont également en faveur de la conception de Shaw. Celle-ci n'est cependant pas admise par Roche et André (1966 *b*). Pour ces auteurs, l'insensibilité de quelques Algues et Végétaux supérieurs à ClO_4^- résulterait de différences de perméabilité, ClO_4^- ne pénétrant probablement pas dans les cellules de ces Végétaux. Il en serait de même pour l'ouabaïne (Roche et André, 1966 *a*). Quant à l'action inhibitrice de la thiourée, elle ne porterait pas sur le transport actif mais s'exercerait sur la combinaison des iodures aux protéines cellulaires, laquelle combinaison permettrait la fixation de I^- dans le protoplasme des Algues après leur transport actif au niveau de la périphérie cellulaire (Roche et André, 1966 *a*). Un même mécanisme, lié à un transport actif, présiderait donc à la fixation des ions I^- dans la thyroïde et chez les Invertébrés et les Végétaux (Roche et André, 1965; 1966 *a*).

Sans exclure l'éventualité, dans certains cas, d'une imperméabilité de la cellule à ClO_4^- expliquant l'inefficacité de cet anion, cette hypothèse ne peut être retenue en ce qui concerne la branchie. En effet, chez des Truites ou des Anguilles mises dans un bain de ClO_4^-, cet anion franchit la barrière branchiale puisqu'il inhibe, dans le milieu intérieur, la liaison de I^- avec une protéine du plasma de Truite (Leloup, 1967 *b* et 2e partie, chapitre 3) et la fixation d'iodure dans la thyroïde. Ainsi, par exemple, après 24 heures de séjour dans un bain de ^{131}I, l'iode fixé dans la thyroïde d'Anguille représente 30 p. 100 de la radioactivité d'un gramme de sang chez les témoins et seulement 2,8 p. 100 chez les poissons traités par ClO_4^-. Quant à l'action inhibitrice de la thiourée sur une combinaison des iodures avec des protéines cellulaires, celle-ci semble peu vraisemblable. En effet, la thiourée ne modifie pas la liaison de I^- avec une protéine du plasma de divers Salmonidés (Leloup, 1964 *c*), ni la fixation de I^- dans certains tissus de Vertébrés Inférieurs où cet ion demeure essentiellement sous forme anionique : chorde dorsale de Lamproie (Leloup et Fontaine, 1960; Clements Merlini, 1962), ovaire de Lamproie ou de Téléostéens (Lindsay et *al.*, 1966; Leloup, résultats inédits). Les hypothèses de Roche et André ne per-

Source : MNHN, Paris

mettent pas d'expliquer l'action inhibitrice d'anions bivalents : SO_3^{--}, $S_2O_3^{--}$, sur la branchie ou les Laminaires alors qu'ils n'influencent pas le mécanisme thyroïdien (WOLFF, 1964), ni l'inhibition par la tyrosine chez *Laminaria digitata*. Enfin, la reprise, chez cette Algue, de la fixation de I^-, en anaérobiose, lorsque cet élément est fourni sous forme oxydée I_2, est un argument très sérieux en faveur de la théorie de SHAW.

Il apparaît donc, du moins chez certaines Algues, qu'il y a bien oxydation de I^- avant sa pénétration dans les cellules du végétal. La similitude de réponse (négative ou positive) à divers agents chimiques du processus de concentration d'iodure dans la branchie et certaines Algues conduit à envisager un mécanisme analogue dans les deux cas.

V. CONCLUSIONS

1. Le transport branchial d'iodure est un phénomène actif. Il nécessite l'intégrité de la cellule, de la chaîne respiratoire et du système de phosphorylations oxydatives qui fournissent l'ATP, source d'énergie indispensable.

2. Ce transport intervient au niveau de la membrane externe de la cellule branchiale, le transfert de I^- de la cellule au sang s'effectuant passivement selon le gradient électrochimique.

3. Le processus de concentration d'iodure dans la branchie est très fortement influencé par la température et le pH. La température optimale est voisine de 25° et le pH optimal de 5,75.

4. L'absorption branchiale d'iodure s'effectue selon un mécanisme différent de celui de l'absorption des électrolytes, Na^+ et Cl^-. Il n'est pas exclu cependant que le même type de cellules branchiales soit impliqué dans les deux transports, la concentration de I^- étant stimulée, chez la Carpe, lorsque l'absorption de Cl^- est bloquée et, inhibée chez l'Anguille adaptée à un milieu hypertonique qui entraîne une excrétion branchiale de Na^+ et Cl^-.

5. Le transport branchial se différencie également du transport thyroïdien de I^- par sa réponse à l'absence de certains cations dans le milieu et à divers inhibiteurs métaboliques ou agents chimiques. En revanche, cette réponse, notamment l'inhibition par la thiourée ou le thiosulfate et l'inefficacité de l'ion ClO_4^-, présente beaucoup d'analogie avec celle observée pour le transport de I^- chez certaines Algues. Cette analogie suggère, comme l'hypothèse en a été émise pour une laminaire (SHAW, 1959), une oxydation de I^- préalablement à son entrée dans la cellule branchiale suivie d'une réduction à l'intérieur de celle-ci puisque l'iode concentré dans la branchie est sous forme I^-.

6. La courbe sigmoïde décrivant la relation entre l'iodure fixé dans la branchie et la concentration en I^- du milieu peut indiquer qu'une protéine allostérique est impliquée dans le transport branchial de cet anion.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE IV

ÉTUDE DU MÉCANISME DU TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE

L'hypothèse d'une oxydation préalable de I^- avant l'entrée dans la cellule branchiale implique, qu'en anaérobiose, un apport d'iode sous forme oxydée, I_2, dans le milieu d'incubation, entraînera une reprise nette de la concentration de l'iodure. De plus, l'incubation de branchies en présence d'une concentration élevée de tyrosine doit, toujours dans l'hypothèse de l'oxydation de I^-, inhiber considérablement l'entrée d'iodure par suite de l'iodation de la tyrosine. L'influence de I_2, en anaérobiose, et de la tyrosine sur le transport d'iodure a donc été étudiée sur la branchie d'Anguille.

I. MISE EN ÉVIDENCE D'UNE OXYDATION DE L'IODURE

A. INCUBATION EN ANAÉROBIOSE EN PRÉSENCE DE I_2

1. Protocole opératoire

La solution de I_2 radioactif est obtenue en traitant, dans un tube bouché émeri, 1 ml d'une solution de NaI, 10^{-3} M, marquée par ^{131}I, par du nitrite de sodium, en milieu HCl, et en présence de 2 ml d'éther sulfurique. Par agitation, I_2 passe dans l'éther qui se colore en jaune brun. La phase éthérée est prélevée et concentrée de moitié environ à 40°. Sa radioactivité est mesurée sur une fraction aliquote et permet de connaître, par référence à l'activité spécifique de la solution initiale d'iodure, la concentration en I_2 stable de cette solution. Cette dernière est diluée d'environ 700 fois dans du KRP, pH 7,3 de façon à obtenir une concentration de 5.10^{-6} atomes g I/l.

Les branchies d'Anguille sont incubées, en aérobiose ou en anaérobiose (atmosphère de N), dans du KRP contenant soit I_2 (5.10^{-6} at. g/l), soit I^- (5.10^{-6} M). Après incubation et mesure de la radioactivité, les filaments branchiaux, découpés en menus fragments, sont homogénéisés mécaniquement (homogénéiseur de Potter) dans NaCl à 9 p. 1 000 et l'homogénat centrifugé 10 minutes à 700 g. Le surnageant, ainsi que le milieu d'incubation, sont alors extraits par 2 volumes de tétrachlorure de carbone en milieu chlorhydrique. La phase tétrachlorique est décantée et la phase aqueuse réextraite par 1 volume de CCl_4. La mesure de la radioactivité de la phase aqueuse et des phases tétrachloriques réunies permet de connaître la forme chimique (I_2 ou I^-) de l'iode dans la branchie et dans le milieu d'incubation.

La quantité de ^{127}I fixé activement par la branchie est calculée à partir du B/M et de la teneur en ^{127}I du milieu, la valeur obtenue étant corrigée de l'iode pénétrant par diffusion.

2. Résultats (tableau 18)

L'iode fixé dans les branchies incubées avec I_2 n'est pas extractible par CCl_4; il est donc sous forme I^-. Au contraire, dans le milieu, la majeure partie de l'iode (67 à 84 p. 100) est sous forme I_2 à la fin de l'incubation, que l'oxygène soit présent ou non.

TABLEAU 18

Influence de l'anaérobiose en présence de I_2 ou I^- sur la fixation branchiale de I^-

Forme de l'iode	O_2	B/M (^{131}I total)	B/M ($^{131}I^-$)	^{127}I Branchies* (µg p. 100 g)	p. 100 ^{131}I milieu (dans CCl_4)
I^-	+	6,24	6,24	292	—
I^-	0	0,39	0,39	0	—
I_2	0	0,92	6,10	30,4	84
I^-	+	5,08	5,08	262	—
I^-	0	0,35	0,35	0	3
I_2	+	1,49	4,79	69	66,8
I_2	0	0,72	2,83	25	71,1

* ^{127}I fixé activement.

Source : MNHN, Paris

En anaérobiose, ainsi que nous l'avons montré précédemment, l'entrée de l'iodure est totalement inhibée, les valeurs du B/M (0,35; 0,39) correspondant sensiblement à l'espace de diffusion de l'iodure.

Lorsque I^- est remplacé par I_2, la fixation branchiale d'iode reprend : le B/M atteint 0,92 ou 0,72 et la concentration de ^{127}I fixé activement 30,4 ou 25 µg/100 g de branchie, alors qu'elle est pratiquement nulle avec I^-. Ces valeurs sont cependant nettement inférieures à celles observées en aérobiose avec I^- (B/M : 6,24 et 5,08; ^{127}I fixé activement : 262 et 292 µg/100 g). Il est possible que cette différence résulte d'une saturation du « transporteur » en I_2, par suite de la concentration relativement élevée de I_2 dans le milieu. En effet, même en aérobiose, avec I_2 le B/M et la concentration en ^{127}I dans la branchie sont environ 3,5 fois plus faibles qu'avec I^-. Remarquons, en outre, que si le B/M[I^-], en anaérobiose, est environ 15 fois plus faible qu'en aérobiose, la variation n'est que du simple au double pour le B/M[I_2]. Enfin, si le B/M[I_2] est calculé par rapport à I^- présent dans le milieu et non par rapport à la radioactivité totale ($I^- + I_2$) de celui-ci, les valeurs obtenues, que l'incubation soit réalisée en aérobiose ou en anaérobiose, sont du même ordre que celles du B/M[I^-] en aérobiose.

B. INFLUENCE DE LA TYROSINE

1. Protocole opératoire

L'incubation est réalisée, dans du KRP, pH : 5,75 (pH optimum du mécanisme branchial (cf. Chapitre 3) contenant de la l-tyrosine (2.10^{-3} M) et NaI (5.10^{-3} M), soit avec des branchies normales, soit avec des branchies portées avec leur milieu à 100° pendant 2 minutes, soit sans branchie. Des branchies normales sont également incubées en présence de thiourée (10^{-3} M). Le B/M est comparé à celui des branchies témoins incubées dans le même milieu sans tyrosine, ni thiourée.

Les milieux et des homogénats de certaines branchies sont chromatographiés en BAc et en BEA. Avant le dépôt sur le papier, du thiouracile est ajouté aux milieux et aux homogénats pour obtenir une concentration de 10^{-3} M. La répartition de la radioactivité sur les chromatogrammes est mesurée.

2. Résultats (tableau 19)

En présence de tyrosine, la concentration branchiale d'iodure est 4 à 5 fois plus faible que celle des témoins. Elle est totalement inhibée par la thiourée (cf. chapitre 3), que le milieu contienne ou non de la tyrosine.

La chromatographie des milieux d'incubation met en évidence, dans le cas des témoins, la présence de faibles quantités de MIT et DIT (de traces à 3 p. 100) et de quantités notables de

TABLEAU I9

Influence de la tyrosine et de la thiourée sur le transport branchial d'iodure, et la forme chimique de l'iode dans le milieu d'incubation et la branchie d'Anguille

Condition de la branchie	Composé ajouté au milieu	B/M	Répartition de ^{131}I							
			Milieu				Branchie			
			Origine	I	MIT	DIT	Origine	I	MIT	DIT
Normale	0	9,30	7,93	85,70	1,94	1,15	0	99,73	0	0
"	Tyrosine	2,00	2,89	40,47	52,55	0	0	98,85	0	0
Normale	0	13,04	6,86	85,15	2,89	0	–	–	–	–
"	Tyrosine	2,67	3,90	15,40	78,24	0,35	0	99,25	0	0
"	Tyrosine + Thiourée	0,21	0	98,91	Traces	0	–	–	–	–
Bouillie	Tyrosine	0,76	0	98,67	0,29	0,36	–	–	–	–
Pas de branchie	Tyrosine	–	0	98,57	Traces	Traces	–	–	–	–

Source : MNHN, Paris

matériel origine (7 à 8 p. 100) alors que l'iodure représente 85 p. 100 de la radioactivité. Ces iodotyrosines et ce matériel origine résultent vraisemblablement de l'iodation de la tyrosine libre et des protéines (albumines?), contenues dans les faibles quantités de plasma exsudant de la branchie au cours de l'incubation. Signalons, en faveur de cette hypothèse, que nous avons observé, dans certaines expériences, une diminution nette du B/M lorsque les branchies étant insuffisamment lavées, le milieu d'incubation est coloré par des traces de sang.

Lorsque le milieu contient de la tyrosine, le matériel origine est moins important (3 à 4 p. 100) alors que les iodotyrosines, essentiellement MIT, renferment de 53 à 79 p. 100 de l'iode total. Aucune iodation de la tyrosine ne se produit lorsque le milieu contient de la thiourée, lorsque la branchie est bouillie ou en l'absence de branchie.

La chromatographie des extraits salins de branchie ne permet pas de caractériser d'iodotyrosines. Tout l'iode marqué est sous forme I^-, que le milieu contienne ou non de la tyrosine.

C. DISCUSSION

La reprise de la concentration de I^- en anaérobiose lorsque l'iode du milieu est sous forme I_2, d'une part, et la diminution considérable du B/M dans un milieu riche en tyrosine, concomitante de la production de MIT et de traces de DIT, d'autre part, impliquent que le transport branchial de I^- est lié à une oxydation préalable de cet anion; il est évident, en effet, que l'action inhibitrice de la tyrosine résulte d'une compétition entre le « transporteur » de la cellule branchiale et la tyrosine du milieu pour l'iode oxydé. L'absence de MIT, lorsque l'incubation est effectuée en présence de thiourée dont l'effet inhibiteur sur l'oxydation des iodures dans la thyroïde est bien connu, confirme la réalité de cette oxydation. Celle-ci est un processus enzymatique puisque la tyrosine ne s'iode pas, lorsque les systèmes enzymatiques de la branchie ont été détruits par la chaleur, ou lorsque l'incubation a été réalisée sans branchie.

L'absence d'iodotyrosines dans la branchie, alors qu'elles peuvent représenter 79 p. 100 de l'iode du milieu lorsque celui-ci contient de la tyrosine, indique que l'oxydation enzymatique de I^- s'effectue en surface de la membrane externe de la cellule branchiale et que l'iode oxydé est immédiatement réduit après son passage dans la cellule. Le fait que l'iode fixé dans la branchie soit sous forme I^-, lorsque l'incubation est réalisée avec I_2, plaide également en faveur d'une réduction dans la cellule.

La nécessité d'une oxydation de I^-, préalable à son accumulation dans la branchie, conduit à s'interroger sur la nature de l'agent oxydant et de l'enzyme impliqué. Le potentiel d'oxydo-réduction du couple : $2\,I^- \rightarrow I_2 + 2e$ est beaucoup plus élevé (+ 0,535 v) que celui de la plupart des systèmes biologiques d'oxydo-réduction. Parmi les agents oxydants, seuls O_2 et H_2O_2 ont un potentiel redox supérieur à celui de I_2, respectivement + 0,82 v et + 1,3 v à pH 7 (Taurog, 1966). L'action inhibitrice sur la branchie de divers composés (thiourée, cyanure, thiocyanate, azoture), lesquels sont des inhibiteurs des peroxydases, pouvait permettre d'inférer que l'enzyme active était une peroxydase. De plus, l'arrêt du transport d'iodure par le sulfathiazol semble en faveur de l'hypothèse d'une intervention de H_2O_2 comme agent oxydant. En effet, ce composé inhibe également le transport d'iodure dans une algue brune, *Nereocystis* (Tong et Chaikoff, 1955), probablement par formation d'un sulfathiazol iodé. Or, cette iodation peut être obtenue simplement en incubant du sulfathiazol avec I^- en présence de H_2O_2, 10^{-3}M (Tong et Chaikoff, 1955).

Si l'agent oxydant est H_2O_2, la catalase doit inhiber le transport d'iodure. De plus, si l'enzyme active est une peroxydase, un homogénat de branchie doit, en présence d'un système générateur de peroxyde d'hydrogène, ioder enzymatiquement la tyrosine et des protéines. Ces deux éventualités ont donc été soumises à l'analyse expérimentale.

II. ÉTUDE DU MÉCANISME D'OXYDATION DE L'IODURE

A. ACTION DE LA CATALASE SUR LE TRANSPORT DE L'IODURE (tableau 20)

L'incubation de branchies d'Anguille en présence de catalase (catalase lyophilisée N.B.C., 3 000 unités/mg) détermine une inhibition du transport d'iodure. Cette dernière, déjà très importante pour 10 µg/ml (B/M réduit à 1/3 de la valeur normale), augmente relativement peu, lorsque la concentration en enzyme est accrue jusqu'à 1 000 µg/ml. La production de H_2O_2 est donc nécessaire au transport d'iodure.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 20

Influence de la catalase sur le transport d'iodure, *in vitro*, dans la branchie d'Anguille (Milieu : 10^{-5}M I^-, pH : 7,3)

Concentration d'enzyme	$\frac{s}{M}$
0	15,64
10 mg/l.	5,26
50 mg/l	4,03
100 mg/l.	4,29
1 g /l.	3,50

B. MISE EN ÉVIDENCE D'UNE IODOPEROXYDASE BRANCHIALE

1. Protocole opératoire

Des homogénats de branchie d'Anguille sont préparés, comme indiqué précédemment (*cf.* paragraphe IA), dans du KRP, pH : 5,7. La concentration finale de l'homogénat est de 5 p. 100. Dans une expérience, après la centrifugation à 700 g, le culot est remis en suspension dans un volume de tampon égal au volume initial et incubé comme l'homogénat centrifugé; en outre, une partie de l'homogénat total est congelée à — 20°, décongelée, puis centrifugée à 700 g. Un homogénat de foie à 5 p. 100 et du sang laqué dilué à 5 p. 100 dans le tampon sont étudiés comparativement avec les homogénats de branchie des mêmes animaux.

Le mélange réactionnel, d'un volume total de 3 ml, contient 2 ml d'homogénat à 5 p. 100, 10 µmoles de glucose, 10 µmoles de tyrosine, 125 µg de glucose oxydase (N.B.C., 30 000 unités par g., solution à 0,125 p. 100 dans l'eau distillée), 30 mµmoles de NaI (soit 10^{-5} M), 10 µC de ^{131}I sans entraîneur. Le volume est complété à 3 ml avec du tampon. Après l'incubation réalisée à 20° ± 1°C, la réaction est stoppée selon deux protocoles :

a) 3 ml d'acide trichloracétique à 20 p. 100 et 0,1 ml de thiosulfate 0,1 M sont ajoutés à l'incubat. Le mélange est centrifugé et le surnageant, extrait successivement par 5, 3 et 2 volumes d'éther, pour éliminer l'acide trichloracétique. 20 à 30 µl de la phase aqueuse sont chromatographiés,

b) 1 ml de thiosulfate 0,1 M est ajouté à l'incubat et le mélange chromatographié immédiatement en BAc.

2. Résultats

Les homogénats de branchie, en présence d'un système générateur de H_2O_2, iodent la tyrosine essentiellement en MIT, accompagnée de quantités beaucoup plus faibles de DIT. Il y a également iodation de protéines de l'homogénat comme l'indique la radioactivité restant à l'origine du chromatogramme (cas de l'incubat additionné de thiosulfate seul) ou avec les protéines précipitées par l'acide trichloracétique (tableaux 21 et 22). L'iodation de la tyrosine et des protéines augmente de façon exponentielle entre 15 minutes et 2 heures d'incubation mais varie peu ou pas du tout lorsque l'expérience est prolongée jusqu'à 6 heures (tableau 22). Cet arrêt, ou ce ralentissement important, de l'iodation résulte de l'oxydation presque totale du glucose par la glucose oxydase après 2 heures d'incubation (*cf.* ALEXANDER, 1959). Nous avons également observé, dans des conditions d'iodation non enzymatiques (concentration en glucose 4 fois plus élevée, cf. Discussion) que le pourcentage d'iodotyrosines marquées restait constant entre 2 et 6 heures d'incubation : 14,22 et 13,94 p. 100 respectivement. Nous avons donc choisi un temps d'incubation de 2 heures pour les expériences dont les résultats sont rassemblés dans les tableaux 21 et 23.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 21

Iodation de la tyrosine et des protéines
par des homogénats de branchies et de foie ou du sang d'Anguille

Expérience n°	Tissu	Homogénat	Conditions d'incubation	Iodotyrosines (p. 100 de ^{131}I)	Iodoprotéines (p. 100 de ^{131}I)
1	Branchie	Normal	Normales	5,22	3,70
	Branchie	Bouilli	Normales	0	0
	Foie	Normal	Normales	0	0
2	Branchie	Congelé	Glucose × 4	14,22	6,47
	Branchie	Congelé et bouilli	Glucose × 4	36,61	3,42
3	Branchie	Normal	Normales	4,42	4,58
	Branchie	Suspension	Normales	5,33	7,14
	Branchie	Congelé	Normales	9,39	3,73
	Branchie	Bouilli	Normales	Traces	0
	Branchie	Normal	Sans glucose ni glucose-oxydase	Traces	0
	Sang	Normal	Normales	0	Traces
	0	0	Normales	1,66	0

Conditions normales d'incubation : temps : 2 h, $t = 20$ °C, pH : 5,7, $[I^-] = 10^{-5}$ M, glucose : $3{,}3.10^{-3}$ M.

TABLEAU 22

Influence du temps d'incubation sur l'iodation de la tyrosine

Temps (minutes)	^{131}I dans Iodotyrosines (p. 100)	^{131}I dans Protéines (p. 100)
15	0,85	0,46
30	1,25	0,77
60	1,38	0,94
120	1,62	0,97
120	1,70	3,45
360	1,46	3,86
120	9,39	3,73
360	12,71	5,32

Dans les conditions normales d'incubation, l'iodation est pratiquement nulle : *a*) avec un homogénat de branchie porté à l'ébullition, *b*) en l'absence de glucose et de glucose oxydase, *c*) avec un homogénat de foie ou du sang laqué (tableau 21, expériences 1 et 3).

Lorsque le culot de centrifugation de l'homogénat est remis en suspension, le pourcentage d'iodotyrosines et d'iodoprotéines est plus élevé qu'avec l'homogénat (tableau 21). En outre, l'homogénat total congelé pendant 6 jours, puis décongelé et centrifugé, iode deux fois plus de tyrosine que l'homogénat centrifugé initial (tableau 21). Enfin, l'homogénat congelé pendant 26 jours conserve une activité sensiblement constante.

L'influence de divers facteurs (température d'incubation, pH, concentration en I^- ou en Cl^- du milieu) sur l'iodation a été étudiée (tableau 23). Celle-ci varie peu, lorsque la température est

Source : MNHN, Paris

de 30° au lieu de 20°, mais elle diminue nettement d'un quart environ, à 37°. Si l'incubation est réalisée, à pH 7,2 au lieu de 5,7, le pourcentage d'iodotyrosines diminue de plus de moitié et celui des iodoprotéines de 5 fois environ. La concentration en I^- du milieu réactionnel est également importante, l'iodation de la tyrosine et des protéines étant de 3 à 5 fois moindre quand $[I^-]$ diminue de 10^{-5} M à 10^{-6} M. Par contre, l'enrichissement du milieu en NaCl de 0,124 M à 0,410 M (donc très hypertonique) ne modifie pas sensiblement l'activité de l'homogénat.

TABLEAU 23

Influence du pH, de la température et de la concentration en I^- et en Cl^- sur l'activité iodoperoxydasique de l'homogénat de branchie

Facteurs étudiés	Niveau	Iodotyrosines	Iodoprotéines
pH	5,7	100	100
—	7,2	42,4	21,3
Température	20°	100	—
—	30°	90,6	—
—	37°	75,6	—
NaI	10^{-5} M	100	100
—	10^{-6} M	21	34
NaCl	0,124 M	100	100
—	0,410 M	91,2	95,4

Valeurs témoins = 100 pour pH : 5,7; t = 20°; NaI = 10^{-5} M; NaCl = 0,124 M.

C. DISCUSSION

L'absence d'iodation, lorsque le système, glucose glucose-oxydase, est omis dans le milieu d'incubation, est en accord avec l'inhibition de la concentration branchiale de I^- déterminée par la catalase et démontre que H_2O_2 est l'agent oxydant nécessaire mais ne prouve pas, *ipso facto*, que l'iodure est oxydé enzymatiquement par une iodoperoxydase. En effet, TONG et CHAIKOFF (1955) ont mis en évidence, en tampon KRB, une iodation non enzymatique de la tyrosine en MIT, intéressant 25 p. 100 du ^{131}I, en présence de H_2O_2 10^{-3} M. L'iodation ne s'effectue plus si la concentration en H_2O_2 est réduite à 10^{-4} M. Un phénomène analogue a été observé par SERIF et KIRKWOOD (1958) en ajoutant H_2O_2 par diffusion à travers une membrane de cellophane. Dans nos conditions d'incubation, analogues à celles utilisées par ALEXANDER (1959), dans son étude de l'iodoperoxydase thyroïdienne, le peroxyde d'hydrogène pourrait atteindre, s'il n'était pas décomposé, une concentration de $3{,}3.10^{-3}$ M, donc suffisante pour une iodation non enzymatique. En fait, nous avons observé, dans une expérience contrôle d'incubation sans homogénat, (tableau 21, expérience 3) une incorporation de 1,66 p. 100 de ^{131}I dans MIT (au lieu de 4,42 p. 100 avec l'homogénat) après 2 heures, laquelle s'élève à 12,54 p. 100, après addition d'une nouvelle dose de glucose, égale à la dose initiale suivie d'une incubation de 2 heures. Cependant, en présence d'homogénat, H_2O_2 est, d'une part, utilisé dans l'iodation de la tyrosine et des protéines, et d'autre part, très vraisemblablement décomposé par la catalase de l'homogénat; il n'atteint donc jamais la concentration nécessaire pour une iodation non enzymatique. L'évidence d'une iodation enzymatique ressort des expériences comparatives, sur des homogénats normaux ou portés à l'ébullition pendant 2 minutes et incubés avec la quantité normale de glucose (expérience 1 et 3) ou avec une quantité 4 fois plus élevée (expérience 2) (tableau 21). Dans le premier cas, l'iodation de la tyrosine et des protéines atteint environ 9 p. 100 de ^{131}I avec l'homogénat normal, mais elle est pratiquement nulle avec l'homogénat bouilli; dans le second cas (glucose × 4) l'iodation (qui est alors essentiellement non enzymatique) est d'environ 20 p. 100, mais elle est supérieure (environ 40 p. 100) avec l'homogénat bouilli, parce que la catalase ayant été dénaturée par l'ébullition, la concentration de H_2O_2 atteint vraisemblablement un niveau plus élevé que dans l'homogénat normal.

Une activité iodoperoxydasique est donc présente dans la branchie. Elle apparaît spécifique des cellules branchiales, car elle ne peut être attribuée à l'hémoglobine présente dans l'homogénat de branchie, puisque l'iodation de la tyrosine et des protéines est nulle avec le sang laqué.

Source : MNHN, Paris

Les variations d'activité de l'enzyme en fonction des conditions de pH, de température et de concentration en I^- du milieu (diminution lorsque le pH s'élève de 5,7 à 7,2, similitude si l'incubation est réalisée à 20° et 30° et diminution au-dessus de 30°, augmentation lorsque la concentration en I^- passe de 10^{-6} M à 10^{-5} M) sont parallèles à celles observées sous l'influence des mêmes facteurs dans les incubations de branchie intacte (*cf.* chapitre 3). Il est donc vraisemblable que les caractéristiques du transport branchial d'iodure mises en évidence précédemment, en particulier les optimums de température (25°) et de pH (5,75), sont celles de l'iodoperoxydase dont le niveau d'activité règlerait l'entrée de l'iodure. De même, l'augmentation du pourcentage d'iode organifié en fonction de la concentration en I^- — situation inverse de celle décrite pour l'iodoperoxydase thyroïdienne (De Groot et Davis, 1962) — indique que la relation sigmoïde, observée précédemment (cf. chapitre 3), entre [^{127}I] concentré « activement » dans la branchie et [^{127}I] du milieu, traduit vraisemblablement un effet coopératif du substrat (I^-) avec l'iodoperoxydase. Celle-ci pourrait donc être une protéine allostérique (Monod et Jacob, 1961; Monod et *al.*, 1963), l'effet du substrat augmentant plus vite que sa concentration. Il est intéressant de signaler, à cet égard, que l'activité peroxydasique de l'hémoglobine, considérée comme le type des protéines allostériques (Wyman, 1963) est beaucoup plus élevée que celle de ses sous-unités isolées contenant une quantité équivalente d'hème, ce qui indique que l'interaction des chaînes polypeptidiques affecte l'activité peroxydasique de la fraction hème comme d'ailleurs son comportement de liaison avec les ligands gazeux (Smith et Beck, 1967).

Le maintien de l'activité iodante à son niveau normal, dans un milieu d'incubation très enrichi en NaCl, montre que l'inhibition du transport branchial d'iodure observée, *in vivo*, chez les Anguilles en milieu hypertonique, n'est pas due à une inactivation de l'iodoperoxydase mais résulte d'une autre cause, peut-être la répression de l'opérateur commandant la synthèse de l'iodoperoxydase envisagée plus haut.

Le fait que les débris cellulaires remis en suspension possèdent une activité iodoperoxydasique supérieure à celle de l'homogénat centrifugé et que ce dernier soit beaucoup plus actif, lorsqu'il est obtenu à partir de l'homogénat total congelé puis décongelé, est en accord avec la localisation vraisemblable de l'enzyme dans la membrane cellulaire. Tong et Chaikoff (1955) ont fait une observation analogue, sur l'Algue brune Nereocystis, dont la capacité d'iodation, fermement associée avec le matériel sédimentant par centrifugation à 3 000 tours/minute, se retrouve dans la fraction non sédimentée après congélations et décongélations répétées de l'homogénat.

Enfin, il n'est pas exclu que l'iodoperoxydase joue le rôle de transporteur puisque la formation d'un complexe entre la peroxydase de raifort et l'iode oxydé a été récemment démontrée (Nunez et Pommier, 1968).

III. CONCLUSIONS

1. Le transport branchial d'iodure implique une oxydation préalable de I^-. Cette oxydation est catalysée par une iodoperoxydase spécifique localisée à la surface externe de la cellule branchiale. Il est possible que le « transporteur » soit l'iodoperoxydase elle-même. La forme oxydée de l'iode est ensuite réduite en I^- dans la cellule branchiale, lequel I^- passe alors dans le milieu intérieur.

2. L'iodoperoxydase branchiale a un pH optimum voisin de 5,7 et un optimum de température de 25°. Par sa réponse à différentes concentrations d'iodure, cette enzyme paraît être une protéine allostérique, dont l'activité est indépendante de la concentration en Cl^- du milieu d'incubation.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE V

RÉGULATION DU TRANSPORT BRANCHIAL D'IODURE

L'augmentation de l'absorption d'iodure observée chez le *smolt* migrateur par comparaison avec le parr sédentaire, et, chez les Anguilles ou les Truites adaptées à 20° par rapport à celles à basse température (*cf.* chapitre 1), pouvait être l'indice d'un contrôle thyroïdien du transport branchial de I^-. En effet, l'activité fonctionnelle de la thyroïde du *smolt* est supérieure à celle du *parr* (FONTAINE et *al.*, 1952; LELOUP et FONTAINE, 1960) et elle croît chez l'Anguille avec la température du milieu (LELOUP, 1958 *b*).

Ce contrôle thyroïdien éventuel a été étudié chez l'Anguille :

a) En abaissant la concentration des hormones thyroïdiennes circulantes par traitement antithyroïdien ou par hypophysectomie et en la rétablissant à un niveau normal par administration de thyroxine;

b) En augmentant cette concentration par l'ablation des corpuscules de Stannius. Celle-ci détermine, en effet, par relai hypophysaire, une activation thyroïdienne importante (LELOUP-HATEY et LELOUP, 1964; LELOUP et LELOUP-HATEY, 1964).

I. ÉTUDE DU CONTROLE THYROIDIEN

A. MISE EN ÉVIDENCE (LELOUP, 1966)

1. Protocole expérimental

Série 1 : Un groupe d'Anguilles de 30 à 64 g est réparti en 4 lots : témoins (7), hypophysectomisées (15 en 2 lots), traitées par le perchlorate de sodium (6) (bain à 0,6 g/litre), cet antithyroïdien étant choisi parce qu'il bloque l'entrée d'iodure dans la thyroïde mais n'inhibe pas le transport branchial (*cf.* Chapitre 3).

Deux semaines après l'hypophysectomie et le début du traitement antithyroïdien, l'eau des aquariums (20 litres renouvelés chaque semaine), est portée de la température initiale, 13°, à celle de 20°, pendant 7 jours, de façon à accélérer la chute de la thyroxinémie chez les Anguilles traitées ou opérées. L'augmentation de la température du milieu diminue, en effet, la demi-vie de T_4 chez l'Anguille (LELOUP, 1965) : le niveau de l'iode organique du plasma (PBI) reste élevé, chez l'Anguille normale, car le métabolisme accéléré de l'hormone est compensé par l'hypersécrétion thyroïdienne déterminée par le mécanisme rétroactif (feedback) hypophyso-thyroïdien, tandis qu'il diminue chez l'hypophysoprive (LELOUP, 1965), et chez l'Anguille traitée par ClO_4^- pour lesquelles le feedback est inopérant. L'eau des aquariums est ensuite ramenée à la température de 13°. Deux jours plus tard, les hypophysoprives de l'un des lots reçoivent pendant 5 jours, dans la cavité générale, une injection quotidienne de 10 µg de d, l-T_4 (0,1 ml d'une solution sodique), tandis que celles de l'autre lot reçoivent une injection du solvant de T_4. Juste après la dernière injection, 100 µC de ^{131}I sont ajoutés à l'eau des 4 aquariums, soit environ 1 mois après le début de l'expérience. Les Anguilles sont sacrifiées 24 heures plus tard et les rapports B/M, B/S et S/M mesurés. Des branchies de chaque Anguille sont, en outre, incubées en présence de ^{125}I et le B/M (^{125}I) mesuré.

Série 2 : Un groupe d'Anguilles de 175 à 415 g est réparti en 2 lots : Anguilles sans corpuscules de Stannius (10) et témoins opérés (12). Huit jours après l'opération, 250 µC de ^{131}I sont ajoutés à l'eau des aquariums (90 litres, température : 14-15°) et les Anguilles sacrifiées 24 heures plus tard. Les rapports B/M, B/S et S/M sont mesurés.

2. Résultats

SÉRIE 1 (fig. 8) : L'hypofonctionnement thyroïdien, déterminé par l'hypophysectomie ou le traitement antithyroïdien, influence nettement le transport d'iodure. Le B/M, égal à $2,82 \pm 0,44$ chez les témoins, n'est plus que de $1,28 \pm 0,23$ chez les hypophysectomisés ($P < 0,01$) et $1,36 \pm 0,12$ chez les poissons traités par ClO^-_4 ($P < 0,02$). Le B/S, égal à $3,89 \pm 0,63$ chez les témoins, est nettement plus élevé dans les deux autres lots, hypophysectomisés : $6,04 \pm 0,47$ ($P < 0,02$) ou traités au perchlorate : $5,75 \pm 1,30$ ($P = 0,2$), différence non significative par suite de la variation du groupe ClO_4^-. Enfin, le S/M, égal à $0,94 \pm 0,16$ chez les témoins, s'abaisse respectivement dans les deux autres groupes à $0,24 \pm 0,026$ ($P < 0,01$) et $0,34 \pm 0,044$ ($P < 0,01$). Les variations de ces trois rapports : B/M, et S/M plus faibles et B/S plus élevé, traduisent, d'après les critères définis précédemment (*cf.* chapitre 2), une réduction importante du transport d'iodure chez le poisson hypothyroïdien.

Source : MNHN, Paris

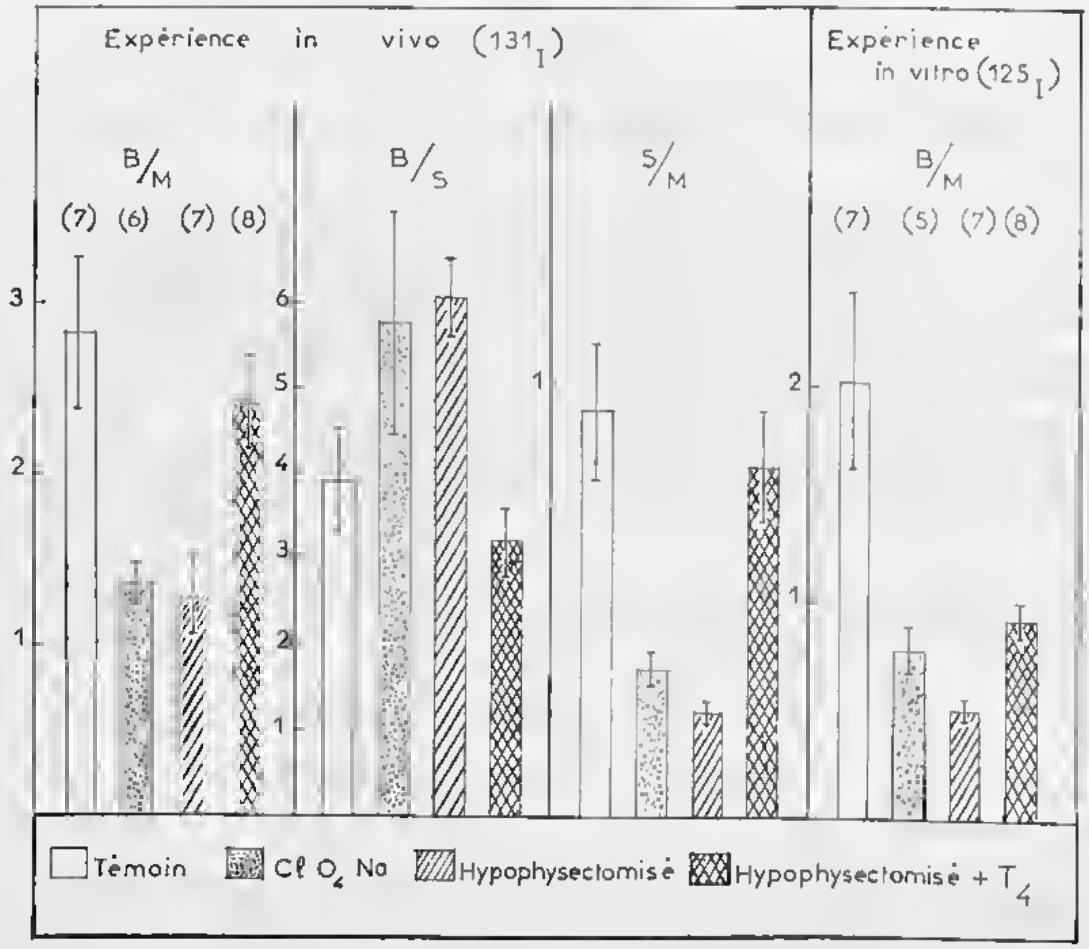


FIG. 8. — Influence du niveau des hormones thyroïdiennes circulantes sur le transport branchial d'iodure chez l'Anguille. (Chiffres entre parenthèses : nombre d'animaux; Lignes verticales : erreur type de la moyenne).

Le traitement des bypopbysoprives par T_4 rétablit le transport à son niveau normal. Les valeurs des trois rapports : B/M : 2,42 ± 0,28; B/S : 3,17 ± 0,38; et S/M : 0,81 ± 0,13, ne sont pas significativement différentes de celles obtenues pour les Anguilles témoins; elles sont au contraire très significativement différentes ($P < 0,01$; $P < 0,001$ et $P < 0,01$ respectivement) des valeurs mesurées chez les Anguilles bypophysectomisées.

L'incubation des branchies confirme les résultats obtenus *in vivo*. Le B/M (^{125}I) égal à 2,03 ± 0,41 chez les témoins, est significativement plus faible chez les Anguilles traitées par ClO_4^- : 0,78 ± 0,11 ($P < 0,05$), et bypopbysectomisées : 0,50 ± 0,05 ($P < 0,01$). Il est presque doublé : 0,91 ± 0,09 chez les Anguilles recevant T_4 par rapport aux bypophysoprives ($P < 0,01$) tout en restant inférieur à celui des témoins ($P < 0,02$).

SÉRIE 2 (fig. 9) : Après ablation des corpuscules de Stannius, le S/M est très supérieur, 1,85 ± 0,16, et le B/S très inférieur, 6,29 ± 1,23, à celui des Anguilles témoins, 1,04 ± 0,10 ($P < 0,001$) et 19,29 ± 3,73 ($P < 0,01$) respectivement. Ces variations traduisent une stimulation importante du transport branchial d'iodure consécutive à l'opération. Le B/M, plus faible chez les opérés réels 10,00 ± 1,15, que chez les témoins opérés, 19,37 ± 2,62 ($P < 0,01$) n'infirme pas cette conclusion; en effet, par suite de l'accélération du transport d'iodure chez les opérés réels, la valeur maximale du B/M est dépassée et la courbe du B/M est dans sa phase descendante, alors qu'elle est encore dans la phase ascendante chez les témoins.

B. SENSIBILITÉ DU TRANSPORT BRANCHIAL AUX HORMONES THYROÏDIENNES

Cette sensibilité a été étudiée *in vitro*. Lorsque l'incubation est réalisée avec ^{131}I sans entraîneur (fig. 10), des concentrations $2,5.10^{-7}$ M, 10^{-6} M, 10^{-5} M de l-T_4 augmentent respectivement le

Source : MNHN, Paris

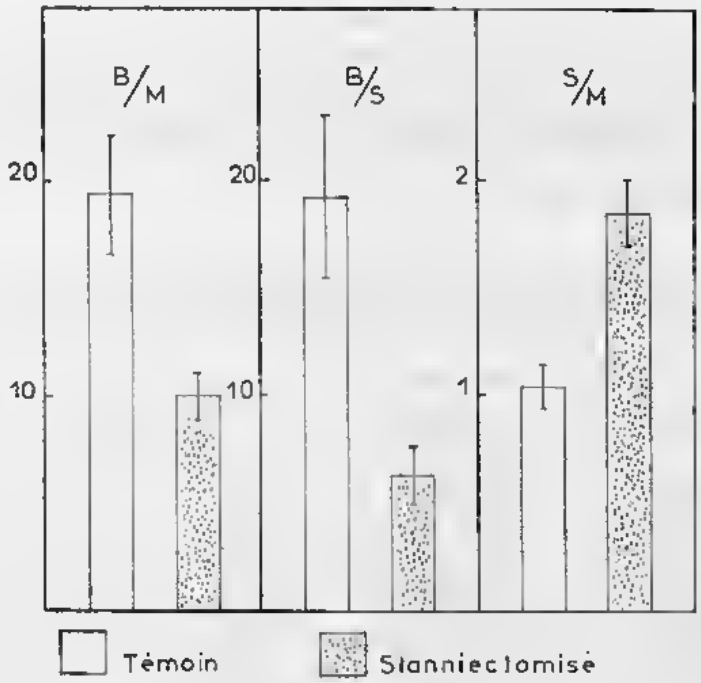


FIG. 9. — Influence de l'ablation des corpuscules de Stannius sur le transport branchial d'iodure chez l'Anguille. (Lignes verticales : erreur type de la moyenne).

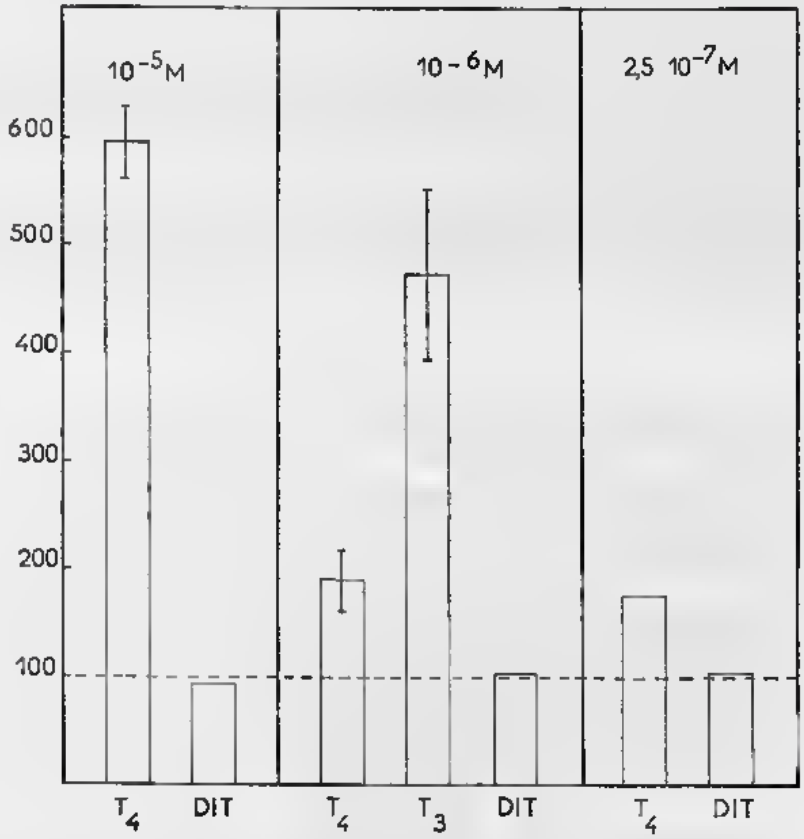


FIG. 10. — Influence des hormones thyroïdiennes et de la diiodotyrosine sur le B/M, *in vitro*, de la branchie d'Anguille (B/M témoin = 100).

Source : MNHN, Paris

B/M de 1,7, 2 et 6 fois par rapport aux branchies des mêmes Anguilles incubées sans hormone. A une même concentration, 10^{-6} M, la l-T_3 est environ 2,5 fois plus active que la T_4. L'action de la T_3 est également évidente en présence de concentrations de ^{127}I variant de 5.10^{-7} à 2.10^{-5} M (tableau 24). Elle est cependant proportionnellement moindre qu'avec ^{131}I sans entraîneur par suite de l'effet stimulant (coopératif) de l'iodure déjà signalé précédemment.

TABLEAU 24

Influence de la 3,5,3'l-triiodothyronine sur le transport branchial d'iodure, *in vitro*, en fonction de la concentration en $^{127}I^-$ du milieu

Concentration $^{127}I^-$	Concentration T_3	B/M Témoin	B/M T_3
Sans entraîneur	10^{-5} M	0,83	3,04
5.10^{-7} M	10^{-6} M	1,82	3,94
5.10^{-7} M	10^{-5} M	2,19	7,56
1.10^{-6} M	10^{-5} M	2,49	9,77
2.10^{-6} M	10^{-5} M	2,77	7,51
5.10^{-6} M	10^{-5} M	3,15	7,66
1.10^{-5} M	10^{-5} M	5,44	7,69
2.10^{-5} M	10^{-5} M	4,66	5,62

C. SPÉCIFICITÉ DU CONTROLE THYROÏDIEN

Les branchies sont incubées en présence de DIT, précurseur de la T_3 ou de la T_4, d'aldostérone (Aldocortène Ciba), ou de diverses hormones hypophysaires : TSH (Armour, 1,2 USP/mg), GH (Choay : 0,5 USP/mg), prolactine ovine (Panlitar Armour), ocytocine (Syntocinon : 5 UI/ml). Ces expériences, *in vitro*, permettent d'éliminer les interférences éventuelles de ces différentes hormones sur la sécrétion thyroïdienne.

La DIT, à des concentrations identiques à celles de T_4, 10^{-5} M, 10^{-6} M et $2,5.10^{-7}$ M, est totalement inactive (fig. 10). Il en est de même, des cinq hormones essayées quelle que soit la concentration utilisée (tableau 25).

TABLEAU 25

Influence de diverses hormones sur le transport branchial d'iodure, *in vitro* (Témoin = 100)

Hormone	Concentration	B/M
Aldostérone	10^{-6} M	103
—	10^{-7} M	106
Ocytocine	10 U. I p. litre	105
—	1 U. I p. litre	97
Prolactine	10 mg p. litre	83
—	1 mg p. litre	108
—	100 µg p. litre	105
Thyréotrope	25 U. I p. litre	116
—	12 U. I p. litre	92
—	5 U. I p. litre	88
Somatotrope.....	5 U. I p. litre	110
—	0,5 U. I p. litre	97

Source : MNHN, Paris

D. DISCUSSION

L'activité du transport branchial d'iodure est physiologiquement contrôlée par le niveau des hormones thyroïdiennes circulantes. En effet, le transport est :

— considérablement ralenti lorsque ce niveau est abaissé par hypophysectomie ou traitement antithyroïdien ;

— rétabli à la normale, chez l'hypophysoprive, par administration de doses minimes de T_4 ;

— augmenté lorsque la thyroïde est stimulée par voie endogène à la suite de l'ablation des corpuscules de Stannius.

L'action des hormones thyroïdiennes s'exerce bien directement sur la cellule branchiale, puisqu'elle est observée *in vitro*, pour des concentrations de $2{,}5.10^{-7}$ à 10^{-5} M en hormone.

Remarquons à cet égard qu'une concentration en T_4 de 10^{-5} M est considérée comme pharmacologique pour les mitochondries isolées car elle découple les phospborylations oxydatives, alors que des doses physiologiques stimulent à la fois la production d'ATP et la respiration (Tata, 1964 ; Hess et Brand, 1964). Une telle action découplante n'apparaît pas dans le cas de la branchie. Si elle se manifestait, pour $[T_4] = 10^{-6}$ M, la production d'ATP serait inhibée et par suite le transport d'iodure lequel, nous l'avons montré, est ATP dépendant ; or, non seulement le transport n'est pas inhibé mais il est sextuplé. En fait, les branchies incubées contiennent encore une quantité notable de sang ; il est vraisemblable qu'une fraction importante de l'hormone du milieu d'incubation est liée à la protéine plasmatique de transport de la T_4, mise en évidence chez l'Anguille (Leloup, 1961, 1964 *a*) et est de ce fait inactive. Les concentrations hormonales utilisées *in vitro* ne préjugent donc pas la quantité réelle d'hormone atteignant le site d'action.

Dans la limite des hormones ou substances essayées, l'action des hormones thyroïdiennes est spécifique. L'inefficacité de la DIT indique que la présence d'iode dans la molécule n'est pas suffisante pour déterminer l'activité et que celle-ci semble requérir la structure diphényléther.

Il existe donc, chez les Téléostéens en eau douce, un mécanisme homéostasique thyroïdien contrôlant le transport branchial de I^- : l'augmentation de la sécrétion thyroïdienne, qui implique un apport d'iodure plus important, stimule l'absorption branchiale de celui-ci. L'iodurémie est ainsi maintenue à un niveau suffisant pour les besoins de la synthèse hormonale. En outre, l'activité plus élevée de la T_3 sur la branchie peut représenter un mécanisme régulateur supplémentaire. On sait, en effet, que, dans les cas de carence en iode, la quantité de T_3 sécrétée par la thyroïde augmente par rapport à celle de T_4 (Leloup et Lachiver, 1955 ; Querido et *al.*, 1957 ; Bois et Larson, 1958) ; cette sécrétion préférentielle de T_3 tendrait donc à augmenter l'absorption d'iodure et à compenser ainsi le déficit en iode.

II. MÉCANISME DU CONTROLE THYROÏDIEN

La démonstration d'un contrôle thyroïdien du transport branchial des iodures conduit à s'interroger sur le mécanisme de ce contrôle hormonal. Remarquons tout d'abord que l'effet des hormones thyroïdiennes ne peut résulter d'une désiodation de celles-ci par l'iodoperoxydase branchiale, l'iodure produit agissant alors par effet coopératif :

1. D'une part, les hormones thyroïdiennes sont actives lorsque la concentration en $^{127}I^-$ dans le milieu est très faible (^{131}I sans entraîneur), ou relativement élevée (1 ou 2.10^{-5} M). Or, pour ces dernières concentrations, la valeur maximale du B/M, en l'absence d'hormone, est atteinte ou dépassée (tableau 24) ; en présence d'hormone, toute augmentation de la teneur en ^{127}I du milieu par désiodation devrait donc entraîner une nouvelle diminution du B/M alors que celui-ci est au contraire très nettement supérieur aux valeurs témoins ;

2. D'autre part, la désiodation éventuelle devrait affecter également la DIT car celle-ci est désiodée plus rapidement que la T_4 en présence d'eau oxygénée et de peroxydase de raifort (Mayrargue-Kodja et *al.*, 1958) ; or la DIT est inactive sur le transport branchial.

Source : MNHN, Paris

A la lumière des travaux récents sur le mode d'action des hormones thyroïdiennes, deux mécanismes pouvaient être envisagés :

1. Induction ou accélération de la synthèse de protéines par régulation au niveau des gènes. Une telle action a été démontrée chez les Mammifères et les Amphibiens (voir la revue de TATA 1966) mais elle est relativement lente à se manifester, 30 heures au moins pour la synthèse de protéines par les microsomes de foie de Rat (TATA, 1964). Bien que ce mécanisme parût peu vraisemblable dans le cas de la branchie puisque l'action de T_3 ou T_4 est rapide, moins de 2 heures *in vitro*, il ne pouvait être écarté *a priori*. La cinétique de la réponse peut en effet varier selon les tissus, et l'action rapide (1 heure) de l'aldostérone sur la peau et la vessie de Crapaud paraît s'effectuer par l'intermédiaire d'une synthèse de protéine *de novo* (DE WEER et CRABBE, 1968);

2. Action de la T_3 et de la T_4 comme effecteurs allostériques, c'est-à-dire déterminant une altération de la structure d'une enzyme ou d'une protéine. Une telle action de la T_4 a été démontrée sur la glutamodeshydrogénase (WOLFF, 1962) et, citée par MONOD et *al.* (1963) en faveur de leur hypothèse d'une action de certaines hormones comme effecteurs allostériques. Un système allostérique pouvant être impliqué dans le transport d'iodure (*cf.* chapitres 3 et 4), ce mode d'action devait être considéré;

3. Enfin quel que soit le mécanisme d'action de la T_3 et de la T_4 sur le transport d'iodure, action sur la synthèse protéique ou comme effecteur allostérique, un rôle éventuel du 3',5'-AMP cyclique — dont la médiation dans l'expression de l'action hormonale a été mise en évidence pour de nombreuses hormones — méritait d'être envisagé. En effet, LEVEY et EPSTEIN (1968) ont observé que la T_3 et la T_4, à doses physiologiques activent l'adénylcyclase cardiaque du Chat, *in vitro*, en quelques minutes.

A. ACTION SUR LA SYNTHÈSE DE PROTÉINES

L'action stimulante de T_3 sur le transport d'iodure a été étudiée en présence de deux inhibiteurs de la synthèse protéique : l'actinomycine D qui empêche la formation de l'ARN messager en inhibant l'ARN polymérase et la puromycine qui inhibe l'assemblage de la chaine polypeptidique sur les ribosomes.

L'incubation des branchies en présence d'actinomycine (10 µg par ml) ou de puromycine (10^{-4} M) est sans influence sur le B/M. L'action de T_3 (10^{-6} M) n'est pas modifiée par ces deux composés (tableau 26).

TABLEAU 26

Influence de l'hormone thyroïdienne, T_3, sur le transport d'iodure dans la branchie d'Anguille en présence d'inhibiteurs de la synthèse protéique

Actinomycine D 10 µg/ml	Puromycine 10^{-4} M	T 3 10^{-6} M	^{127}I Entraineur 10^{-5} M	B/M
0	0	0	0	0,54
0	0	+	0	1,47
+	0	+	0	1,22
+	0	0	0	0,55
0	0	+	+	9,49
+	0	+	+	8,06
0	0	0	0	1,17
0	0	+	0	1,98
0	+	+	0	1,93
0	+	0	0	1,14

Source : MNHN, Paris

B. ACTION COMME ACTIVATEURS ALLOSTÉRIQUES

D'après la théorie allostérique, vérifiée pour un certain nombre d'enzymes, la courbe substrat-réaction, en présence d'une haute concentration d'un effecteur activateur saturant les sites allostériques, n'est plus sigmoïde mais devient une hyperbole michaelienne (MONOD et *al.*, 1965; MONOD, 1966). Nous avons donc étudié l'influence d'une forte concentration de T_3, 10^{-8} M, sur la relation entre $[^{127}I^-]$ « fixé activement » dans la branchie et $[^{127}I^-]$ du milieu, par comparaison avec la relation obtenue en l'absence de T_3 pour des branchies des mêmes Anguilles.

En milieu anhormonal, nous retrouvons la courbe sigmoïde déjà illustrée précédemment à partir d'autres données expérimentales. Cette courbe se transforme en hyperbole michaélienne en présence de T_3 (fig. 11). En coordonnées selon LINEAWER-BURK, la relation, curviligne en l'absence de T_3, devient rectiligne en présence d'hormone (fig. 12).

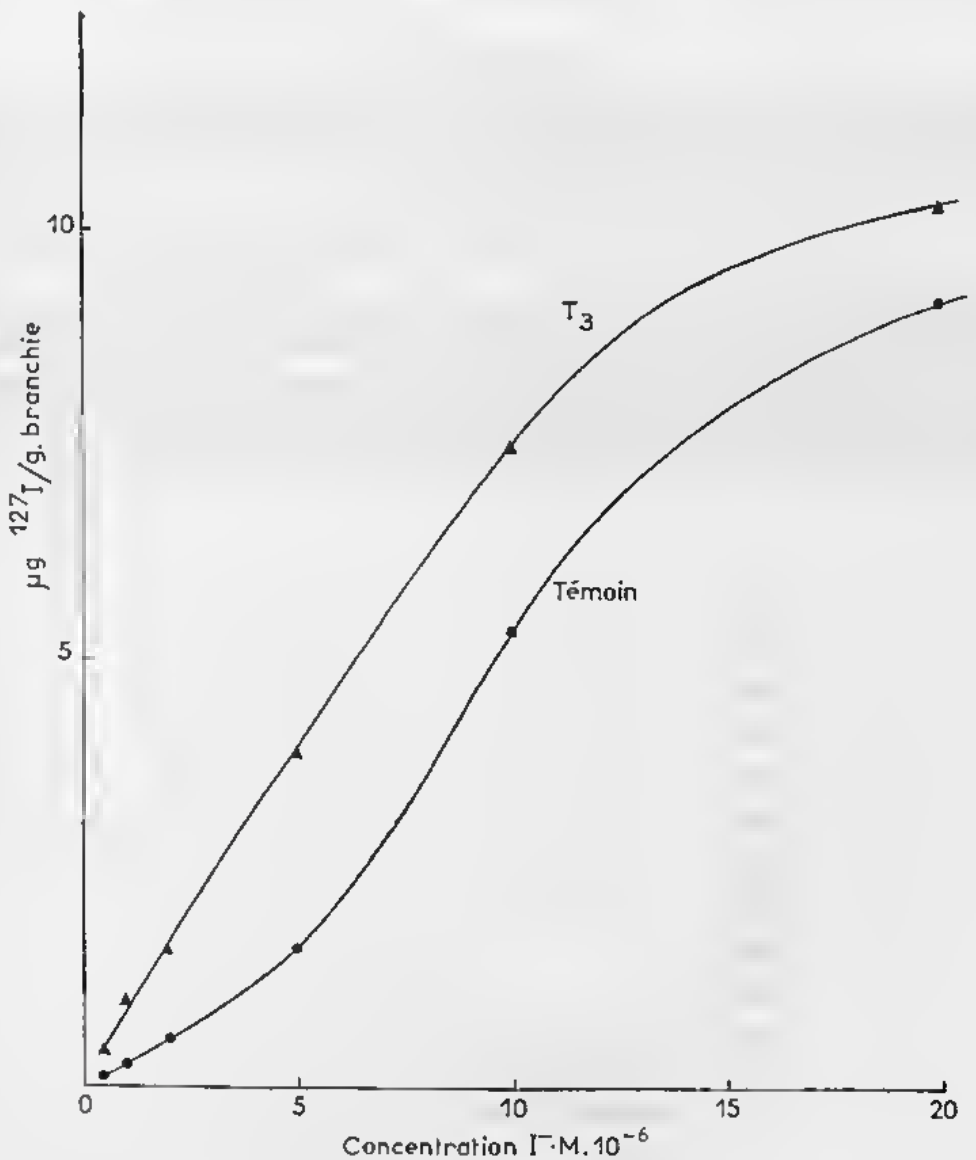


FIG. 11. — Activité du mécanisme branchial de transport d'iodure (I^- fixé activement dans la branchie) en fonction de la concentration en I^- du milieu, en absence ou en présence d'activateur (T_3 : 10^{-8} M).

Source : MNHN, Paris

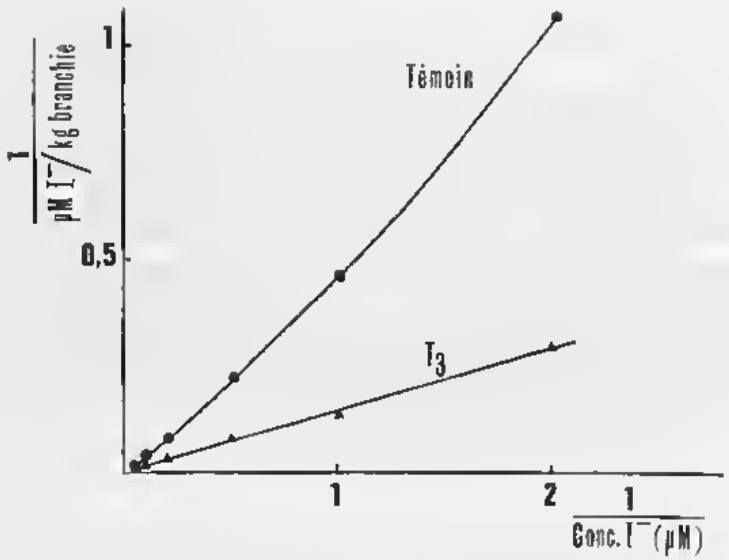


FIG. 12. — Activité du mécanisme branchial de transport d'iodure (I^- fixé activement dans la branchie) en fonction de la concentration en I^- du milieu en absence ou en présence d'activateur (T_3 : 10^{-6} M). Représentation selon LINEWEAVER et BURK.

C. ACTION PAR MÉDIATION DU 3',5'-AMP CYCLIQUE (fig. 13)

L'incubation de branchies d'Anguilles hypophysectomisées en présence de concentrations élevées (10^{-3} M) de 3',5'-AMPcyclique, de théophylline (inhibiteur de la phosphodiestérase) ou d'un mélange de ces deux substances ne modifie pas le B/M. Au contraire le B/M de branchies de ces mêmes Anguilles est triplé en présence d'ATP ($2{,}5.10^{-3}$ M) et décuplé par la T_3 (10^{-6} M). En outre la théophylline ne potentialise pas l'action d'une faible dose de T_3 (10^{-7} M).

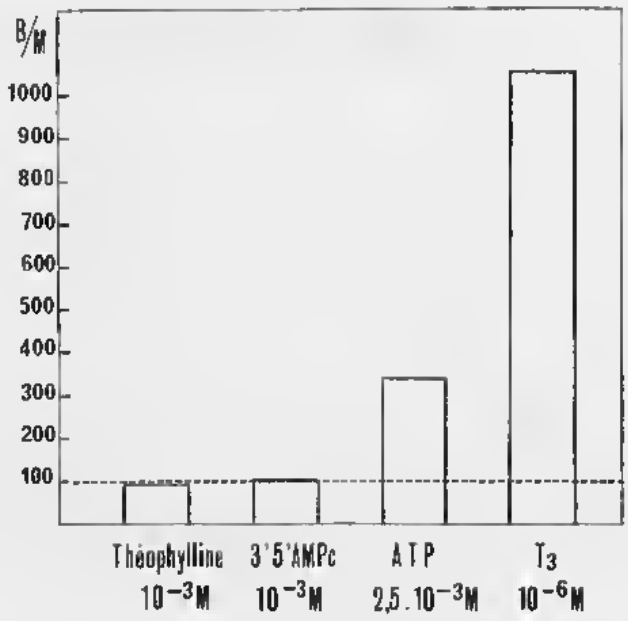


FIG. 13. — Influence comparée de la théophylline, du 3', 5'-AMP cyclique, de l'ATP et de T_3 sur le transport branchial de I^-, *in vitro* (B/M témoin = 100).

Source : MNHN, Paris

D. DISCUSSION

L'action stimulante des hormones thyroïdiennes sur la concentration d'iodure dans la branchie ne semble pas impliquer une synthèse de protéines *de novo*, ni une médiation du 3',5'-AMP cyclique. Au contraire, la transition de la courbe sigmoïde en courbe michaélienne en présence de T_3 plaide en faveur d'une action de ces hormones comme effecteurs allostériques d'une protéine, vraisemblablement de l'iodoperoxydase. Cependant, la démonstration définitive d'un tel mode d'action nécessite une étude à partir d'une préparation purifiée de cette enzyme. Une telle étude permettrait en outre de vérifier que l'action hormonale est directe. Il n'est pas exclu, en effet, que celle-ci soit indirecte. Nous avons montré que l'ATP, *in vitro*, stimule également la fixation branchiale d'iodure réduite par l'hypophysectomie. Il est donc possible d'envisager un rôle de l'ATP comme effecteur allostérique au même titre que les hormones thyroïdiennes. Rappelons à cet égard que la thyroxine et l'ATP, inhibiteurs de la glutamodeshydrogénase, se lient au même site allostérique (Wolff, 1962; Frieden, 1963; Stadtman, 1966). Dans cette hypothèse, une action indirecte des hormones thyroïdiennes, par stimulation au niveau mitochondrial de la production d'ATP, ne peut être écartée.

III. CONCLUSIONS

1. Le transport branchial d'iodure est contrôlé par la thyroïde. Il est diminué lorsque l'activité fonctionnelle de la glande est réduite par traitement antithyroïdien ou après hypophysectomie, et dans ce dernier cas, rétabli à son niveau normal par administration de thyroxine. Il est augmenté lorsque l'activité thyroïdienne est stimulée par l'hormone thyréotrope endogène. La 3,5,3'-triiodothyronine est plus active que la thyroxine.

2. Ce contrôle thyroïdien paraît spécifique. Aucune des nombreuses hormones non thyroïdiennes essayées *in vitro* n'est active; il en est de même de la 3,5-diiodotyrosine, précurseur des hormones thyroïdiennes, ce qui semble indiquer que la structure diphényléther est nécessaire.

3. L'action stimulante des hormones thyroïdiennes n'implique ni une induction ou une accélération de la synthèse de protéines par régulation au niveau des gènes, car elle se manifeste en présence d'actinomycine D ou de puromycine, ni une médiation du 3',5'-AMP cyclique. Au contraire, une action des hormones thyroïdiennes comme effecteurs allostériques de l'iodoperoxydase branchiale peut être envisagée.

Source : MNHN, Paris

DEUXIÈME PARTIE

TRANSPORT SANGUIN DES IODURES : L'IODUROPHORINE

CHAPITRE I

LIAISON DE L'ION IODURE DANS LE PLASMA DE CERTAINS TÉLÉOSTÉENS

La cinétique du rapport B/S et certaines des modifications de l'absorption de I^- induites par les antithyroïdiens chez la Truite arc-en-ciel impliquent, comme nous l'avons précédemment signalé (1re partie, chapitres 2 et 3), l'existence, chez cette espèce, d'un mécanisme d'absorption de I^-, indépendant du mécanisme branchial, et intervenant au niveau du transfert de cet ion de la branchie au sang. Une étude comparative de la répartition de I^- dans le sang de plusieurs espèces de Téléostéens d'eau douce nous a conduit à inférer, puis à démontrer, la présence, chez certaines d'entre elles, d'un facteur plasmatique de liaison de l'iodure, lequel représente ce mécanisme extra-branchial d'absorption.

I. RÉPARTITION DES IODURES DANS LE SANG DE DIVERS TÉLÉOSTÉENS

Chez les Mammifères (WALLACE et BRODIE, 1937; TREVORROW, 1939; JOLIOT et *al.*, 1944; SCOTT et *al.*, 1951; BERSON et *al.*, 1952; OWEN et POWER, 1953) et chez les Oiseaux (LACHIVER et POIVILLIERS de la QUÉRIÈRE, 1959), l'iodure circulant pénètre largement dans les hématies. L'ion I^- se répartit, entre le plasma et les hématies, sensiblement suivant leurs teneurs en eau respectives, dans le cas des Mammifères (RALL et *al.*, 1950; BOATMAN et MOSES, 1951), mais non dans celui des Oiseaux (LACHIVER et POIVILLIERS de la QUÉRIÈRE, 1959). Chez les Téléostéens, un travail préliminaire sur le Saumon adulte ayant montré que l'iodure sanguin (^{127}I ou ^{131}I) se retrouvait en majeure partie dans le plasma (FONTAINE et LELOUP, *in* LELOUP, 1952), la distribution de I^- dans le sang a été étudiée chez quatre espèces : le Saumon adulte, la Truite arc-en-ciel, la Carpe et l'Anguille (FONTAINE et LELOUP, 1957).

A. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Les expériences sont réalisées *in vitro* et *in vivo*. Dans le premier cas, 1 ou 2 ml de sang hépariné sont additionnés de 10 μ ou 20 μl de solution saline (NaCl) isotonique de ^{131}I sans entraîneur et le mélange réalisé, à 15 $\pm$ 2 °C, par agitation pendant 5 minutes, temps suffisant pour atteindre l'équilibre du ^{131}I entre les hématies et le plasma. Le sang est centrifugé dans des tubes cylindro-coniques, à 6 000 t/min., pendant 20 minutes, à une température égale à celle de l'équilibration. Après prélèvement du plasma, la couche supérieure des hématies est éliminée afin de réduire au minimum la contamination de celles-ci par le plasma ; seule la partie inférieure du culot est utilisée pour la mesure de radioactivité. Dans les expériences *in vivo*, les poissons sont sacrifiés 6, 24 72 heures après l'injection de ^{131}I et le sang centrifugé peu de temps après la récolte. L'absence de quantités significatives d'iode organique marqué dans le plasma est contrôlée. Le chlore a été dosé dans le sang, le plasma et les hématies du Saumon ou de la Carpe.

Source : MNHN, Paris

La répartition de I^- ou Cl^- dans le sang est exprimée par le rapport : H/P = $^{131}I^-$ ou Cl^- par g hématies/$^{131}I^-$ ou Cl^- par g plasma, ou le rapport S/P = $^{131}I^-$ ou Cl^- par g sang/$^{131}I^-$ ou Cl^- par g plasma. Le rapport d'équilibre iodure-eau (= H/P I^- × % eau du plasma/% eau des hématies) a été également calculé. Ce rapport est voisin de l'unité dans l'hypothèse d'une répartition analogue de l'eau et de l'iodure.

A titre comparatif, le H/P I^- a été également calculé, dans quelques cas, pour chaque espèce, à partir de la radioactivité volumique du sang et du plasma et de la valeur hématocrite selon l'équation :

$$H/P = \frac{\left[^{131}I/ml\ sang - \left(^{131}I/ml\ plasma \times \frac{\%\ vol.\ plasma}{100}\right)\right] \frac{100}{\%\ vol.\ hématies}}{^{131}I/ml\ plasma}$$

Les valeurs du H/P volumique ainsi calculées, légèrement supérieures à celles obtenues par mesure directe du H/P en poids, deviennent pratiquement identiques à celles-ci lorsqu'elles sont exprimées en poids, en tenant compte des poids spécifiques respectifs des hématies et du plasma. Cette identité des valeurs par les deux méthodes indique que la contamination des hématies par le plasma dans la méthode directe est faible. Seules les données obtenues par cette dernière méthode ont considérées dans l'expression des résultats.

B. RÉSULTATS

La répartition de l'ion I^- entre les hématies et le plasma est analogue, pour une même espèce, dans les expériences *in vivo* et *in vitro*, mais varie considérablement suivant l'espèce considérée (tableau 27). L'ion I^- pénètre très peu dans les hématies des Salmonidés (H/P faible), spécialement dans celles du Saumon adulte, alors qu'il diffuse dans les hématies de la Carpe et plus encore dans celles de l'Anguille, chez laquelle le H/P est voisin de celui mesuré chez divers Homéothermes.

TABLEAU 27

Répartition de l'ion I^- dans le sang de divers Téléostéens

Espèce	Mode opératoire	Hématies/Plasma	Rapport d'équilibre Iodure-eau
Saumon.....	In vivo	0,09 (0,08 -0,10)*	0,142
Truite	In vivo	0,208 (0,173-0,312)	0,266 (0,214-0,397)
Truite	In vitro	0,306 (0,302-0,312)	0,394 (0,389-0,402)
Carpe.....	In vivo	0,349 (0,295-0,422)	0,503 (0,420-0,609)
Carpe.....	In vitro	0,352 (0,338-0,369)	0,507 (0,487-0,532)
Anguille	In vitro....	0,520 (0,500-0,540)	0,663 (0,637-0,689)

* — Les valeurs entre parenthèses indiquent les limites de variations.

Dans les expériences *in vivo*, la différence des valeurs du H/P est très significative ($P < 0,01$) entre le Saumon et la Truite d'une part, la Truite et la Carpe d'autre part. Quelle que soit la répartition sanguine de l'iodure, celle-ci ne suit pas celle de l'eau, car le rapport d'équilibre iodure-eau est toujours très inférieur à 1 (tableau 27). Les Téléostéens se comportent donc à cet égard comme les Oiseaux et se différencient des Mammifères.

Le comportement particulier de l'ion I^- chez le Saumon ne se retrouve pas pour un autre halogène, l'ion Cl^-. En effet, si chez la Carpe, comme chez l'Homme (RALL et *al.*, 1950; OWEN et POWER, 1953), l'hématie est plus perméable à l'ion I^- qu'à l'ion Cl^- puisque les rapports H/P Cl^- ou S/P Cl^- sont plus faibles que les rapports correspondants pour I^- (tableau 28) ($P < 0,01$), la situation inverse est observée chez le Saumon. Le S/P Cl^-, très significativement plus élevé que le S/P I^- ($P < 0,001$) (tableau 28) et nettement supérieur au S/P Cl^- de la Carpe, indique que, contrairement à l'ion I^-, l'ion Cl^- diffuse librement dans les hématies du Saumon.

C. DISCUSSION

Les différences observées entre les quatre espèces de Téléostéens étudiées ne peuvent découler de leurs iodurémies variées ; d'une part, l'ion I^- pénètre peu, à la fois, dans les hématies du Saumon de montée et dans celles du Saumon de frayères dont l'iodurémie est beaucoup plus faible, et,

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 28

Comparaison de la répartition des ions Cl^- et I^- dans le sang de la Carpe et du Saumon (expériences *in vivo*)

Espèce	H/P I^-	H/P Cl^-	S/P I^-	S/P Cl^-
Carpe.....	0,349 ± 0,016	0,294 ± 0,024	0,80 ± 0,021	0,673 ± 0,022
Saumon.....	0,09 ± 0,005	—	0,538 ± 0,021	0,77 ± 0,013

d'autre part, le rapport H/P de la Carpe, dont l'iodurémie est faible, n'est pas modifié par addition au sang de 50 ou 500 µg de ^{127}I entraîneur. Ces différences ne peuvent résulter d'une combinaison chimique de l'iodure avec certains constituants globulaires chez la Carpe ou l'Anguille puisque des hématies de ces espèces marquées à ^{131}I, mises en suspension dans du plasma non radioactif du même animal selon les proportions de l'hématocrite, redonnent la valeur originale du H/P. En revanche, l'analogie entre le comportement de I^- chez certains Téléostéens et celui observé dans le sang des Mammifères pour la T_4, qui ne pénètre pas ou très peu dans les hématies (JOLIOT *et al.*, 1944), par suite de sa liaison à des protéines du plasma, nous a conduit à émettre l'hypothèse (LELOUP, 1958 *c*) que le facteur limitant la pénétration de l'ion I^- dans les hématies de ces poissons, était une « liaison » de cet ion à un ou des constituants du plasma.

II. MISE EN ÉVIDENCE D'UNE LIAISON DE L'ION I^- DANS LE PLASMA DE SAUMON ET DE TRUITE (FONTAINE et LELOUP, 1958; LELOUP et FONTAINE, 1960)

Cette liaison a été démontrée par des expériences sur des hématies lavées et par dialyse d'équilibre de plasma.

A. HÉMATIES LAVÉES

1. Protocole expérimental

Après centrifugation de sang hépariné de Saumon de montée, de Truite arc-en-ciel et d'Anguille argentée, les hématies recueillies sont mises en suspension dans 2 à 3 volumes de solution saline isotonique puis centrifugées. L'opération est renouvelée trois fois, de façon à éliminer toute trace de plasma. A une même quantité d'hématies lavées, on ajoute une microgoutte d'une solution saline de ^{131}I sans entraîneur et un volume, calculé selon la valeur hématocrite du sang utilisé, soit de solution saline isotonique pure, soit de solution saline contenant des proportions croissantes (1/16, 1/8, 1/4, 1/2, 3/4) de plasma du même animal. Le mélange est agité pendant 5 minutes, puis centrifugé et le H/P mesuré.

2. Résultats (fig. 14)

Le H/P de l'Anguille ne varie pas quel que soit le milieu en contact avec les hématies. Au contraire, chez le Saumon et la Truite, le H/P qui est respectivement de 0,10 et 0,22, s'élève à 0,69 et 0,66 en moyenne lorsque le plasma est complètement remplacé par une solution saline. La valeur du H/P diminue rapidement lorsque la solution saline ajoutée aux hématies renferme des proportions croissantes de plasma et, pour le mélange à parties égales plasma-solution saline, elle est voisine de la valeur normale.

Une expérience de croisement interspécifique a été également réalisée entre des hématies lavées d'Anguille et du plasma de Saumon d'une part et entre des hématies lavées de Saumon et du plasma d'Anguille d'autre part. Dans le premier cas, le H/P est égal à 0,13 et dans le second, il est de 0,70.

B. DIALYSE D'ÉQUILIBRE DE PLASMA

1. Protocole expérimental

Un volume de plasma de Saumon de montée, de Truite arc-en-ciel, d'Anguille ou de Carpe est dialysé (tube de cellulose Visking 20/32) à 4 °C, avec agitation électro magnétique, pendant 48 heures, contre 7,5 volumes de solution saline (NaCl) isotonique. Au début de l'expérience, une microgoutte de solution saline de ^{131}I sans entraîneur est ajoutée, soit au plasma dans le sac de dialyse, soit à la solution saline à l'extérieur du sac. Le rapport de concentration (R = ^{131}I par ml de plasma/^{131}I par ml de dialysat) est calculé.

Source : MNHN, Paris

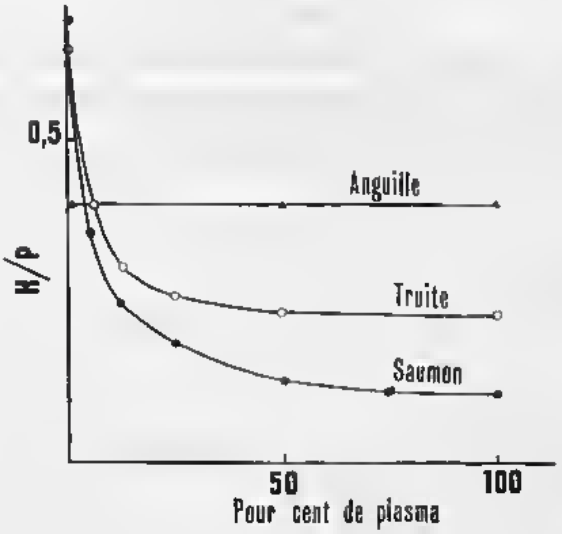


FIG. 14. — Variations du H/P [I⁻] en fonction de la proportion de plasma dans la solution saline ajoutée aux hématies.

2. **Résultats** (tableau 29)

La valeur de R est pratiquement identique lorsque ^{131}I est ajouté à l'extérieur ou à l'intérieur du sac de dialyse. Il n'y a aucune concentration de I^- dans les plasmas de Carpe et d'Anguille ($R = 1$). Celle-ci est par contre très importante dans les plasmas de Truite ou de Saumon (jusqu'à 38 fois).

TABLEAU 29

Variations spécifiques du rapport [^{131}I] plasma/[^{131}I] dialysat en dialyse d'équilibre

Espèce	^{131}I dans sac de dialyse	^{131}I à l'extérieur du sac
Saumon.....	21,1	20,5
Saumon.....	38,4	35,2
Truite.....	14,5	14,2
Anguille.....	1,02	1,00
Carpe.....	1,00	0,98

C. DISCUSSION

Les faibles valeurs de H/P (I^-) obtenues pour les sangs de Truite et de Saumon, ne résultent pas d'une imperméabilité des bématies de ces espèces à l'ion I^-, puisque, si le plasma est totalement remplacé par une solution saline, I^- pénètre largement dans les bématies; dans ce cas, comme chez la Carpe, le S/P I^- du Saumon est supérieur (0,82) au S/P Cl^- (0,77). La présence dans le plasma de Saumon et de Truite, et l'absence dans celui de Carpe et d'Anguille, d'un facteur de liaison de l'iodure, empêchant ou réduisant sa diffusion dans les hématies, découle des expériences de croisement interspécifique hématies-plasma, de la diminution du H/P des deux Salmonidés en fonction de la quantité de plasma dans le milieu et des valeurs de R dans le système de dialyse d'équilibre.

L'identité des rapports de concentration lorsque ^{131}I est ajouté dans le sac de dialyse ou à l'extérieur de celui-ci indique que la liaison s'effectue selon un processus d'équilibre reversible et n'est pas de type covalent. De plus, la chromatographie sur papier de plasma de Saumon marqué par ^{131}I qui ne met en évidence que I^-, et le fait que ^{131}I lié dans le plasma n'est pas extractible par le chloroforme en milieu acide et le devient après oxydation ($NaNO_2$), confirment que la forme chimique liée est bien I^-.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 30

Répartition zoologique du facteur (F) de liaison de l'iodure

Classe, super ordre et ordre	Espèce	Milieu	Caractéristiques (Évolution génitale)	F	II/P	Rapport de dialyse
CYCLOSTOMES						
Petromyzonoïdés	Lamproie marine (*Petromyzon marinus marinus* L.).....	E.D	En migration reproductrice.....	—	0,38 (1)	1,01 (1)
CHONDRICHTHYENS						
Elasmobranches.	Petite Roussette (*Scyllium canicula* L.)	E.M.	♂ Évolution variée ...	—	0,45 ± 0,011 (6)	1,00 (2)
	Grande Roussette (*Scyllium stellare* Flem.).	E.M.	♂	—	0,43 (1)	1,04 (1)
	Raie (*Raja* sp.).	E.M.	♂ + ♀	—	—	1,01 (2)
OSTEICHTHYENS						
Chondrostéens ..	Esturgeon (*Acipenser fulvescens*).	E.D.	Non migrateur. Immatures.	—	—	0,99 (2)
	Esturgeon (*Acipenser oxyrhynchus*).	E.D.	Migrateur. Immature.	—	—	1,00 (7)
Holostéens	Lépisosté (*Lepisosteus osseus*).	E.D.	Immatures.	—	—	1,01 (3)
Téléostéens						
Clupéiformes...	Alose (*Alosa alosa* L)	E.D.	2 ♂ et 1 ♀ évolués en migration reproductrice.	+	0,23 (1)	8,49 ± 1,00 (3)
	Saumon (*Salmo salar* L.)	E.D.	♂ et ♀ au début de la migration reproductrice.	+	0,105 ± 0,0078 (17)	28,5 ± 3,0 (12)
	Truite de mer (*Salmo trutta* L.).	E.D.	6 ♀ ± évoluées en migration reproductrice.	+	0,124 ± 0,06 (6)	25,6 ± 2,08 (4)
	Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii* Rich.).	E.D.	♂ et ♀ immatures.	+	0,22 ± 0,007 (25)	16,5 (2)
	Truite commune (*Salmo fario* L.)..	E.D.	2 ♂ et 1 ♀ mûrs.	+	0,19 ± 0,009 (3)	11,3 (1)
	Omble chevalier (*Salvelinus alpinus* L.).	E.D.		+	—	7,1 (1)
	Brochet (*Esox lucius* L.).	E.D.	♂ évolués.	+	0,092 ± 0,002 (3)	22,0 ± 1,09 (4)
Cypriniformes .	Brême (*Abramis brama* L.)	E.D.	2 ♂ mûrs.	—	0,55 (2)	1,01 (2)
	Carpe (*Cyprinus carpio* L.).	E.D.	♂ et ♀ d'évolution variée.	—	0,38 ± 0,016 (11)	1,03 (3)
	Gardon (*Gardonus rutilus*).	E.D.	2 ♀.	—	0,56 (2)	1,02 (2)
	Tanche (*Tinca tinca* L.).	E.D.	2 ♂.	—	0,41 (1)	1,02 (1)
	Poisson chat (*Ameiurus nebulosus* Les.).	E.D.	2 ♂ et 1 ♀.	—	0,51 (1)	1,04 (1)
Anguilliformes	Anguille (*Anguilla anguilla* L.).	E.D.	6 ♀ argentées.	—	0,47 ± 0,038 (3)	1,01 (1)
	Congre (*Conger conger* L.).	E.M.	2 ♀ dont 1 très évoluée.	—	0,60 (1)	1,00 (2)
Mugiliformes ..	Muge (*Mugil* sp.).	E.D.	Immatures ou peu évolués.	+	0,23 ± 0,049 (4)	6,8 ± 1,56 (3)
	Muge (*Mugil* sp.).	E.M.	Immatures ou peu évolués.	+	0,44 (1)	1,9 (2)

E.D. = Eau douce; E.M. = Eau de mer.

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de déterminations effectuées sur des animaux ou groupes d'animaux différents.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 30 (SUITE)

Répartition zoologique du facteur (F) de liaison de l'iodure

Classe, super ordre et ordre	Espèce	Milieu	Caractéristiques (Évolution génitale)	F	H/P	Rapport de dialyse
Gadiformes	Lote (*Lota lota* L.).	E.D.	2 ♂ très évolués.	—	0,65 (2)	0,99 (2)
Perciformes ...	Loup (*Labrax lupus*).	E.M.	♂ et ♀ évolués.	—	0,49 (2)	1,30 (2)
	Perche soleil (*Eupomotis gibbosus* L.).	E.D.	1 ♂	—	0,29 (1)	0,98 (1)
	Sar (*Sargus rondeleti*).	E.M.	1 ♂.	—	—	0,96 (1)
	Uranoscope (*Uranoscopus scaber*).	E.M.	3 ♂.	—	—	1,01 (2)
	Rascasse (*Scorpaena* sp.)	E.M.	2 ♀.	—	—	0,97 (1)
DIPNEUSTES .	Protoptère (*Protopterus annectens* Owen).	E.D.	3 ♂.	—	0,47 ± 0,026 (3)	—

E.D. = Eau douce; E.M. = Eau de mer.

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de déterminations effectuées sur des animaux ou groupes d'animaux différents.

III. RÉPARTITION ZOOLOGIQUE DU FACTEUR DE LIAISON DE L'ION I^- (LELOUP et FONTAINE, 1960; LELOUP, 1964*b*)

La démonstration d'une liaison de I^- dans le plasma de deux Salmonidés, le Saumon et la Truite arc-en-ciel, mais non dans le plasma d'Anguille ou de Carpe, indique qu'il ne s'agit pas d'un caractère commun à tous les Téléostéens et pose donc le problème de la répartition zoologique du facteur de liaison. Celle-ci a été étudiée, par la mesure du H/P et (ou) du rapport de dialyse, chez un certain nombre d'espèces d'éthologie et d'écologie variées appartenant aux Cyclostomes et à divers ordres de poissons. Dans le cas des Élasmobranches, la dialyse est effectuée contre une solution de ClNa à 16 p. 1 000 et d'urée à 23 p. 1 000.

Le facteur de liaison n'a pu être mis en évidence (tableau 30) chez les Cyclostomes, les Élasmobranches, les Chondrostéens, les Holostéens et les Dipneustes et paraît donc n'exister que chez les Téléostéens. Chez ces derniers, 23 espèces ont été étudiées, appartenant à 6 ordres parmi les plus importants sur les côtes et dans les rivières d'Europe. La liaison n'est en rapport ni avec l'habitat : eau douce ou eau de mer, ni avec le comportement migratoire ou amphibiotique, mais en revanche, elle est en relation évidente avec la taxinomie. Toutes les espèces appartenant à un ordre déterminé, quelles que soient leur écologie ou leur éthologie, se comportent identiquement. Ainsi, tous les Clupéiformes et les Mugiliformes possèdent le facteur de liaison alors qu'il est absent dans tous les autres ordres étudiés. En accord avec ces données, une liaison importante de I^- a été confirmée chez les Clupéiformes : Truite arc-en-ciel, Brochet, Corégone (Coregonus clupeaformis) et Ombre (Thymallus arcticus) (WOLFF, 1964; HUANG et HICKMAN, 1968). L'existence du facteur de liaison chez les Mugiliformes qui présentent anatomiquement, à côté de caractères plus spécialisés les rapprochant de la Perche, des caractères primitifs de Brochet, d'où le nom de Persésoces qui leur était donné autrefois, fournit un argument biochimique pour rapprocher cet ordre des Clupéiformes.

IV. CONCLUSIONS

1. Chez le Saumon et la Truite arc-en-ciel, la répartition de l'iodure sanguin entre les hématies et le plasma diffère nettement de celle observée chez les Mammifères, les Oiseaux et d'autres Téléostéens. L'iodure pénètre peu (Truite) ou extrêmement peu (Saumon adulte) dans les hématies.

2. Le comportement particulier de I^- dans le sang de ces deux Salmonidés résulte d'une liaison de cet ion à un constituant du plasma. L'étude de la répartition zoologique du facteur de liaison chez les Cyclostomes et les poissons montre que celle-ci est en relation directe avec la position taxinomique des espèces. Ce facteur ne se rencontre pas en dehors des Téléostéens et, parmi ceux-ci, il est présent chez tous les Clupéiformes et Mugiliformes et absent chez tous les Cypriniformes, Anguilliformes, Gadiformes et Perciformes étudiés.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE II

ÉTUDE DU FACTEUR PLASMATIQUE DE LIAISON DE L'ION I^- : L'IODUROPHORINE

La démonstration d'une liaison de I^- dans le plasma conduit à rechercher la nature du facteur de liaison, puis, celle-ci étant définie, à étudier les caractéristiques de la liaison, notamment l'influence de facteurs physico-chimiques (pH, température, teneur en iode, inhibiteurs) et la force de l'interaction exprimée par la constante d'association. Cette étude a été réalisée essentiellement chez le Saumon adulte et, pour quelques expériences, chez la Truite arc-en-ciel.

I. NATURE DU FACTEUR DE LIAISON

Par analogie avec les nombreuses interactions d'ions ou de petites molécules avec des protéines plasmatiques décrites dans la littérature, il était permis d'envisager que le facteur de liaison de l'ion I^- était de nature protéique. Celle-ci a été démontrée par l'étude de l'influence d'une enzyme protéolytique sur la liaison.

Du plasma de Saumon dilué au demi, soit avec du tampon véronal (pH 8,6), soit avec du NaCl à 8 p. 1 000, est incubé pendant 24 heures à 37° avec de la trypsine (Trypsine brute Armour) à raison de 50 mg/ml de plasma. Le rapport de dialyse est ensuite mesuré à 4° et comparé à celui du même plasma non incubé ou incubé 24 heures à 37° sans enzyme. L'incubation à 37° diminue légèrement la liaison, mais celle-ci est totalement abolie par l'hydrolyse trypsique (tableau 31) (Leloup, 1964 *c*).

La nature de la (ou des) protéine(s) impliquée(s) dans la liaison a été précisée par précipitation des protéines du plasma par un sel neutre, par électrophorèse sur papier et par filtration sur gel de dextrane.

A. PRÉCIPITATION DES PROTÉINES PAR UN SEL NEUTRE (Leloup, 1964 *c*)

La précipitation des protéines de plasma de Saumon par $(NH_4)_2SO_4$ à demi-saturation (pH 7,4), qui classiquement sépare albumine et globulines, suivie d'une dialyse d'équilibre, en présence de ^{131}I, sur le surnageant et sur le précipité de globulines, préalablement redissous dans NaCl à 8 p. 1 000, montre que la (ou les) protéine(s) spécifique(s) se retrouve(nt) totalement dans la fraction albumine.

B. ÉLECTROPHORÈSE SUR PAPIER (Fontaine et Leloup, 1958; Leloup et Fontaine, 1960)

Elle a été réalisée simultanément sur des plasmas de Saumon, de Truite ou d'Anguille, marqués par ^{131}I, et, à titre de référence, sur du plasma de Rat, à 3 milliampères pendant 2 h 1/2, 6 h, ou 16 h.

Les résultats (fig. 15 et 16) varient en fonction de l'espèce considérée et du temps d'électrophorèse. Pour un même temps d'électrophorèse (6 heures), on observe dans le cas du Saumon, soit un seul pic de radioactivité situé dans la zone de migration des protéines, soit deux pics, dont le plus important correspond à l'iodure lié et le plus faible, situé très nettement en avant de la zone des protéines, correspond à l'iodure libre. Chez la Truite, les pics d'iodure lié et d'iodure libre ont une importance sensiblement égale. Enfin, chez l'Anguille ou chez le Rat, il n'existe qu'un seul pic correspondant à l'iodure libre.

Pour une même espèce, la courbe de radioactivité évolue en fonction du temps d'électrophorèse. Ainsi, chez le Saumon ou la Truite, le pic d'iodure libre est beaucoup moins important par rapport au pic d'iodure lié lorsque l'électrophorèse est poursuivie pendant 2 heures 30 au lieu de 6 heures. Au contraire, après 16 heures d'électrophorèse, le pic d'iodure lié a totalement disparu chez ces deux espèces.

Source : MNHN, Paris

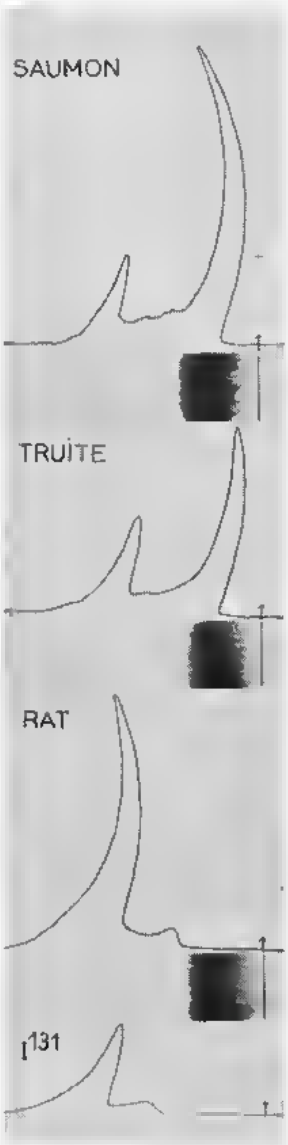


FIG. 15. — Électrophorèse sur papier (tampon véronal, pH : 8,6, force unique 0,1, courant 3 m A) d'une solution de $^{131}I^-$ (témoin) et de plasmas de Saumon, Truite et Rat additionnés de $^{131}I^-$. Les protéinogrammes sont alignés avec l'enregistrement de la radioactivité. Les flèches indiquent le point d'application du plasma. Temps de migration : 2 heures 30.

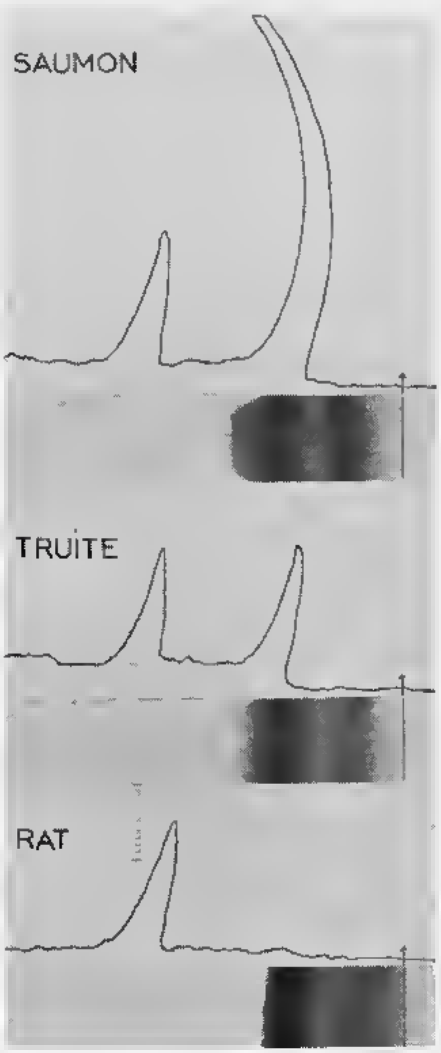


FIG. 16. — Électrophorèse sur papier de plasmas de Saumon, Truite et Rat. Conditions identiques à celles de la FIG. 15, sauf temps de migration : 6 heures.

La comparaison de l'électrophorégramme de plasma de Saumon avec celui de plasma de Rat (fig. 16) indique une liaison de I^- avec une protéine caractérisée par une vitesse de migration voisine de celle de l'albumine de Rat. Chez la Truite, la protéine de liaison a une mobilité légèrement supérieure à celle du Saumon.

C. FILTRATION SUR GEL DE DEXTRANE (LELOUP, 1964 *c*) (fig. 17)

Elle a été réalisée sur Séphadex G 200 à partir de 3 ml de plasma de Saumon de frayères préalablement additionné de $^{131}I^-$ sans entraîneur. A titre comparatif, 3 ml de plasma non marqué de Rat, sont soumis à la filtration moléculaire sur la même colonne (*cf.* BOULOUARD et FONTAINE, 1963).

Source : MNHN, Paris

La courbe de concentration en protéines de l'effluent présente, comme celle des plasmas de Mammifères (Flodin, 1962), trois pics. Cependant, l'importance relative de ces différents pics est très différente chez le Saumon, d'une part, et chez les Mammifères, d'autre part. Tandis que, chez ces derniers (*cf.* courbe du plasma de Rat), le pic médian (globulines 7 S) est d'importance analogue à celui des protéines plus légères (3,5-4 S) constituées principalement par la sérum-albumine, et que le pic des protéines les plus lourdes (lipoprotéines) est d'importance moindre

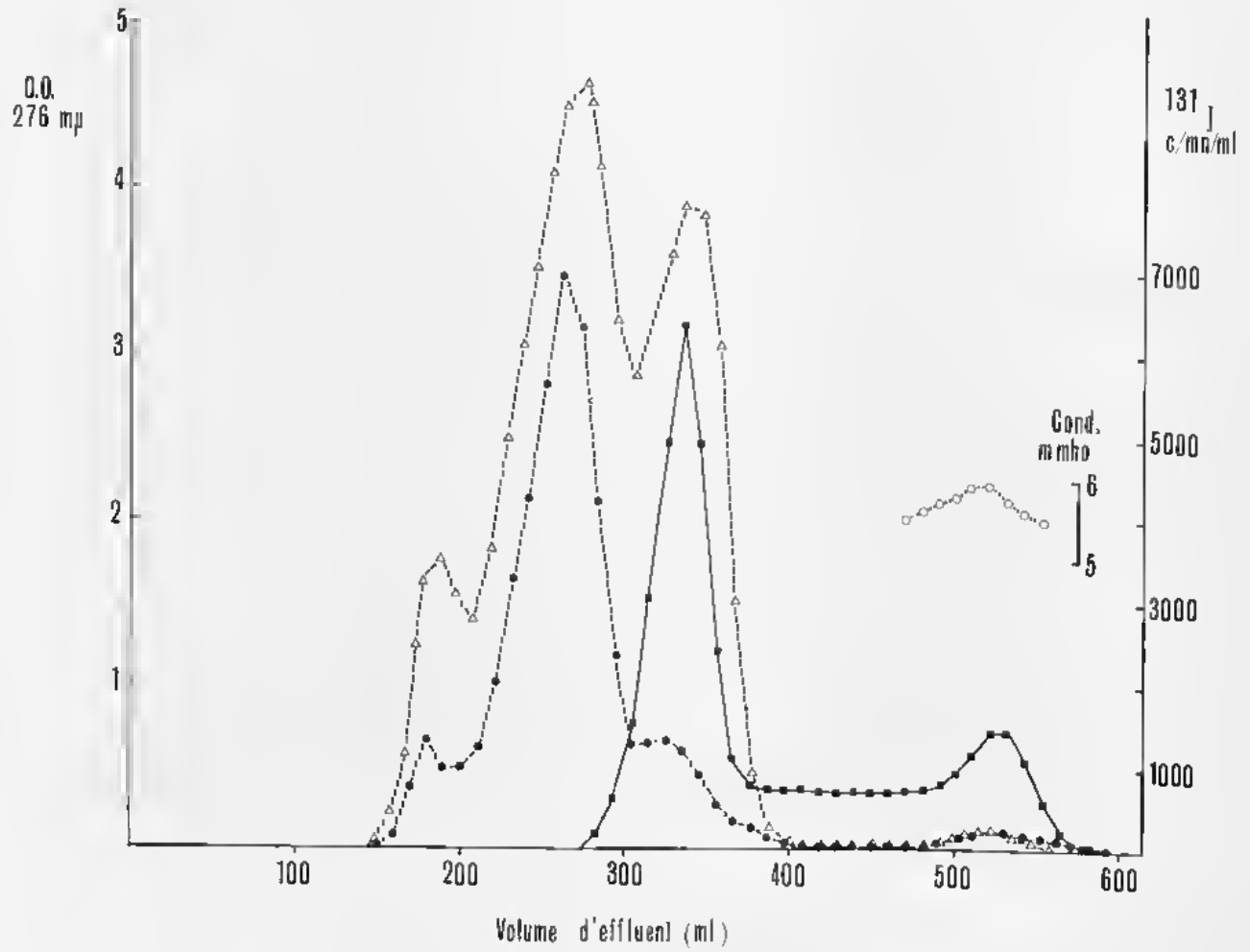


Fig. 17. — Filtration sur gel Sephadex G 200 de plasma de Saumon additionné d'iodure marqué (^{131}I) et de plasma de Rat. △---△ Absorption à 276 mμ (protéines) (Rat). ●···● Absorption à 276 mμ (protéines) (Saumon). ■—■ Radioactivité (Saumon). ○··○ Conductivité (Saumon).

mais cependant notable, chez le Saumon, le pic médian contient la majeure partie des protéines plasmatiques, les pics des lipoprotéines et de l'albumine ayant une faible amplitude. Cette répartition confirme la pauvreté relative en albumine du plasma des poissons déjà mise en évidence par électrophorèse (Drilhon et *al.*, 1958), pauvreté accentuée dans le cas du Saumon de frayères par le jeûne prolongé.

La courbe de radioactivité présente deux maximums. Le plus important de ceux-ci, très symétrique, celui de l'iodure lié, correspond, avec un décalage d'un tube, au pic de protéines légères (4 S) du Saumon et très exactement au pic de sérumalbumine du Rat. L'autre maximum, d'amplitude bien moindre, correspond en localisation, au pic des sels, mis en évidence par la mesure de la conductivité de l'effluent, et représente donc l'iodure libre. Il existe, en outre, une traînée de radioactivité entre le pic d'iodure lié et celui d'iodure libre.

Source : MNHN, Paris

D. DISCUSSION

Les résultats de l'électropborèse sur papier et de la filtration moléculaire, spécialement la symétrie du pic d'iodure lié sur Sépbadex, indiquent qu'une seule protéine intervient dans la liaison de I^-. Nous avons donc proposé, pour cette protéine porteuse d'iodure, le nom d'*iodurophorine* (Leloup, 1967 *b*), de préférence à transiodine (par analogie à transferrine ou transcortine) parce que ce terme n'implique aucune idée de transport, de mouvement actif, mais traduit une simple constatation pbysique d'association entre la protéine et l'balogène. Avant d'adopter cette appellation, il était toutefois nécessaire de montrer que l'iodurophorine ne liait pas également la T_4. En effet, chez les Téléostéens, la T_4 circule, comme cbez les autres Vertébrés, en association avec une ou plusieurs protéines plasmatiques (Leloup, 1964 *a*). Or, chez le Saumon, l'hormone est liée à uoe protéine migrant, en électropborèse sur papier, comme la sérumalbumine de Mammifères (Leloup, 1961) et ayant, par suite, une mobilité très voisine, sinon identique, à celle de l'iodurophorine. En conséquence, il convenait, en utilisant une tecbnique de séparation faisant intervenir non plus la cbarge électrique des protéines mais leur dimension moléculaire, de vérifier si l'iodurophorine et la protéine liant la tbyroxine constituaient, ou non, des entités distinctes. Nous avons donc réalisé successivement sur la même colonne de Sépbadex G 200, une filtration d'un mélange de plasmas de Saumon de frayères additionné de T_4 marquée par ^{131}I(T_4*) puis du même mélange additionné de ^{131}I sans entraîneur.

La courbe de radioactivité de l'effluent pour la T_4* présente 4 pics (fig. 18). Le premier, faible, correspoud aux protéines les moins retardées, le second, et de loin le plus important, est dans la zone des globulines les plus légères du pic principal de protéines, le troisième, relativement faible, correspond au pic d'albumine, enfin, le quatrième, extrêmement faible, occupe la position des sels. La comparaison de cette répartition de la radioactivité avec celle obtenue pour $^{131}I^-$ (fig. 18) montre, d'une psrt, que les troisième et quatrième pics du diagramme représentent respectivement I^- lié et I^- libre provenant du radioiodure contaminant la T_4* et, d'autre part, que l'ioduropborine est nettement distincte de la protéine principale liant T_4, laquelle, en accord avec les données fournies par l'électrophorèse en gel d'amidon (Leloup, 1961) a un poids moléculaire supérieur. Ces résultats mettent en évidence l'bétérogénéité de la hande « albumine » du plasma de Saumon, en électropborèse sur papier, et soulignent l'impossibilité d'établir une corrélation sûre, entre les protéines sériques des poissons et des Mammifères, par cette tecbnique employée isolément.

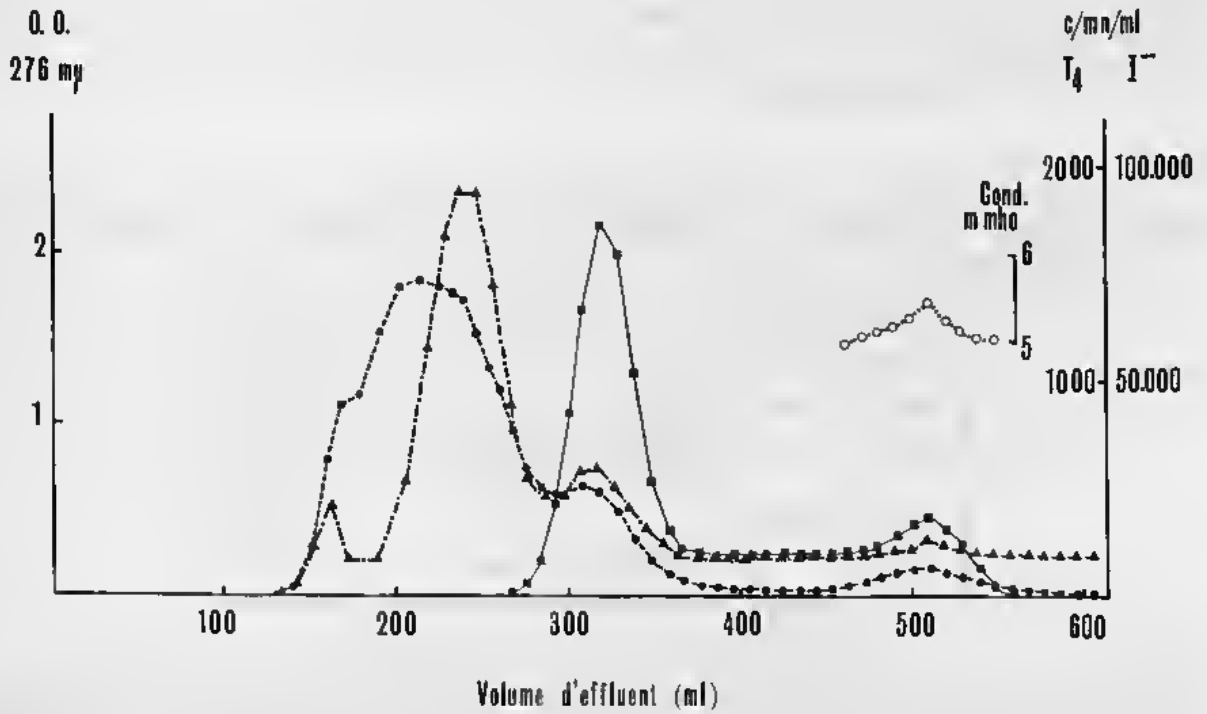


Fig. 18. — Filtration sur gel Sephadex G 200 de plasma de Saumon additionné d'iodure ou de thyroxine marqués (^{131}I). ●···● Absorption à 276 mμ (protéines). ■—■ Radioactivité (iodure). ▲—·—·▲ Radioactivité (thyroxine). ○··○ Conductivité.

Source : MNHN, Paris

Les données obtenues au moyen des trois techniques utilisées pour caractériser l'iodurophorine concordent pour lui attribuer des paramètres moléculaires voisins de ceux de la sérumalhumine de Mammifère : charge électrique relativement élevée (migration analogue des deux protéines en électrophorèse sur papier) et poids moléculaire relativement faible (non précipitation par $(NH_4)_2SO_4$ à demi-saturation). Par suite de la concordance entre les pics des deux protéines sur Séphadex, le poids moléculaire de l'iodurophorine peut être estimé de l'ordre de celui de la sérumalbumine de Rat, soit 69 000 (CHARLWOOD, 1959), dans la mesure toutefois où l'iodurophorine ne contient pas de quantités notables de sucres. On sait en effet que les glycoprotéines se comportent de façon anormale sur Séphadex, comme si elles avaient un poids moléculaire supérieur à la valeur réelle (WHITAKER, 1963; ANDREWS, 1964; WARD et ARNOTT, 1965).

La dissociation de la liaison iodurophorine-I^- observée au fur et à mesure de la prolongation de l'électrophorèse et également au cours de la filtration sur Séphadex, comme le montre la traînée de radioactivité entre les pics d'iodure libre et l'iodure lié [1] (fig. 17), indique que la constante d'association de l'interaction protéine-iodure est relativement faible et que ces deux techniques ne peuvent permettre d'évaluer la quantité d'iodure libre réellement présente dans le plasma.

Signalons enfin que les variations observées, pour un même temps d'électrophorèse, entre différents plasmas de Saumons et entre plasmas de Saumons et de Truites, dans l'importance relative des pics de I^- lié et de I^- libre, sont en relation avec les valeurs du H/P ou du rapport de dialyse. Le pic d'iodure lié est d'autant plus important que le H/P est plus faible et le rapport de dialyse plus élevé.

II. CARACTÉRISTIQUES DE LA LIAISON IODUROPHORINE-IODURE

A. INFLUENCE DE FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES

La liaison, mesurée par dialyse d'équilibre, n'est pas modifiée par congélation ou lyophilisation du plasma; au contraire, le chauffage du plasma à 60° pendant 15 minutes la supprime presque totalement (tableau 31) (LELOUP, 1964 *c*). La composition saline du milieu de dialyse ne semble pas intervenir, le rapport de dialyse étant identique en tampon Krebs-Ringer phosphate ou en NaCl isotonique. La dénaturation des protéines par les réactifs de précipitation de celles-ci (acide trichloracétique par exemple) détruit totalement la liaison, l'iodure étant quantitativement retrouvé dans le liquide surnageant.

TABLEAU 31

Influence de l'hydrolyse trypsique ou du chauffage sur la liaison de l'iodure dans le plasma de Saumon

Plasma dilué au demi avec	Traitement	Rapport de dialyse
NaCl, 8 p. 1 000	0	11,98
— —	Incubation 24 heures à 37°	10,92
— —	Incubation + Trypsine	1,05
— —	Chauffage 15 minutes à 60°	1,30
Tampon véronal	0	11,82
— —	Incubation 24 heures à 37°	8,12
— —	Incubation + Trypsine	1,00

1. Il existe également une traînée de radioactivité, en arrière de la zone d'élution des protéines dans le cas de T_4* (Figure 18), constituée pour une faible partie de I^- et, pour la majeure partie, de T_4 libre provenant de la dissociation du complexe protéine-T_4 au cours de la filtration moléculaire. Alors que la radioactivité de l'effluent devient nulle, après la zone des sels, dans le cas de I^-, elle reste sensiblement constante dans le cas de T_4. Cette traînée traduit l'élution progressive de la T_4 libre, qui n'apparaît pas avec les sels, parce qu'elle est adsorbée sur le gel (LISSITZKY et *al.*, 1962).

Source : MNHN, Paris

1. Effet de la température

La liaison est nettement influencée par la température (Leloup, 1964 *c*). Le H/P et le rapport de dialyse ont été mesurés, sur les mêmes sangs ou plasmas de Saumons, à 4°, 17° et, dans un cas, à 37°, la dialyse étant poursuivie un temps suffisant pour que l'équilibre soit obtenu, soit 48 heures à 4°, 36 heures à 17° et 6 heures à 37°. Le H/P augmente et le rapport de dialyse diminue en fonction de la température (tableau 32) traduisant une diminution de la liaison, donc une augmentation de l'iodure libre, lorsque la température augmente.

Tableau 32

Influence de la température sur la liaison de l'iodure dans le plasma de Saumon

Plasma n°	Température		
	4°	17°	37°
	H/P		
1	0,136	0,166	—
2	0,133	0,195	—
	Rapport de dialyse		
1	16,26	9,17	—
2	18,58	11,13	4,70
3	19,00	9,66	—
4	17,22	10,53	—

2. Effet du pH

Protocole expérimental : L'influence du pH sur la liaison a été étudiée sur du plasma de Truite arc-en-ciel par dialyse d'équilibre à 4° contre des tampons de différents pH. Les tampons utilisés, préparés selon Gomori (1955), sont : acide acétique acétate, pH 3,6 et 4,8 ; phosphate, pH 5,5 à 7,5 ; tris HCl, pH 8,2 et 9,1 ; borax, pH 8,9 ; carbonate-bicarbonate, pH 9,7 et 10,3. Ces tampons sont dilués dans une solution de chlorures de façon à obtenir une concentration finale en NaCl 0,120 M et KCl, 0,005 M et une force ionique comprise entre 0,16 et 0,17. Les plasmas sont dilués au demi avec NaCl 0,154 M et dialysés contre 6 volumes de solution tampon. Les activités de l'ion hydrogène, à l'intérieur et à l'extérieur du sac de dialyse, sont mesurées à la fin de la dialyse et trouvées identiques. Ces valeurs finales du pH sont seules considérées pour établir la courbe de variation du rapport de dialyse en fonction du pH.

Résultats (fig. 19) : La liaison est faible entre pH 4 et pH 6,5 avec une valeur minimale à pH 5,8. Elle augmente rapidement au dessus de pH 6,5 pour atteindre sa valeur maximale à pH 7,5 environ. Elle reste alors constante jusqu'à pH 8,7 et diminue ensuite lentement jusqu'au pH le plus élevé étudié.

3. Effet de la concentration en iodure

Dans les interactions des petites molécules avec les protéines, tous les sites de liaison ne sont pas occupés. Il est donc possible, dans le cas de l'iodurophorine, de saturer les sites de liaison en surchargeant le milieu en iodure. Le H/P et le rapport de dialyse ont été mesurés chez le Saumon en ajoutant des quantités croissantes d'iodure stable au sang ou au plasma. Le H/P augmente et le rapport de dialyse diminue régulièrement lorsque la teneur en I^- augmente (tableau 33). La quantité d'iodure lié augmente, en fonction du $^{127}I^-$ dans le système de dialyse, et tend pour les teneurs élevées vers l'asymptote correspondant à la saturation des sites de liaison (fig. 20).

Source : MNHN, Paris

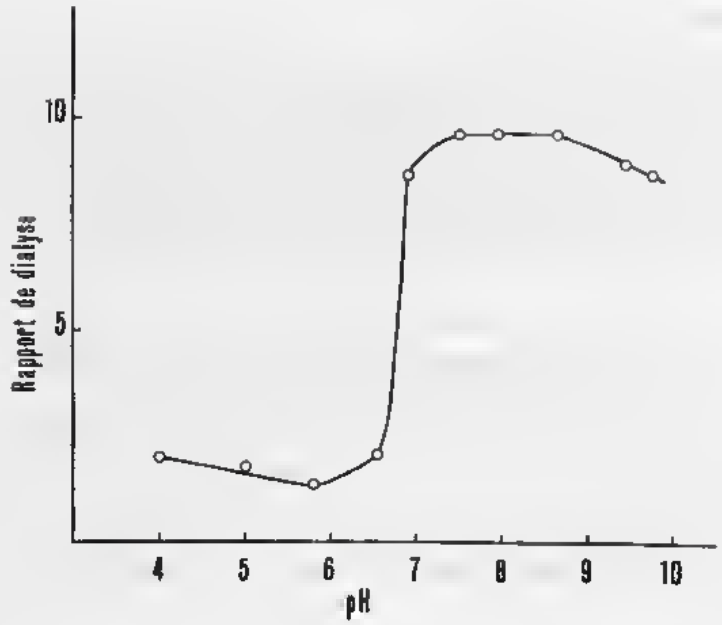


FIG. 19. — Influence du pH sur la liaison iodure-iodurophorine.

TABLEAU 33

Influence de la concentration en iodure sur la liaison de l'iodure dans le plasma de Saumon

Saumon	µg d'iodure ajoutés à 1,5 ml de sang						
n°	0		1,5		3,75		7,5
	H/P						
1	0,109		0,113		0,216		0,300
2	0,102		0,163		0,176		0,355
	µg d'iodure ajoutés dans le système de dialyse (2 ml de plasma + 15 ml de solution saline)						
	0	5	20	50	100	200	400
	Rapport de dialyse						
2	25,0	17,7	—	2,9	—	1,71	—
3	40,4	26,4	9,6	—	2,05	—	1,25

La concentration de ces derniers peut être calculée à partir de R et de la quantité de $^{127}I^-$ ajoutée dans le système lorsque celle ci est suffisamment élevée (200 à 400 µg) pour saturer presque totalement l'iodurophorine (R voisin de 1). Cette méthode moins exacte que celle proposée ci-dessous (paragraphe B) n'entraîne pas une erreur importante; elle a été utilisée sur des plasmas d'Alose, de Truite de mer et de Muge.

Source : MNHN, Paris

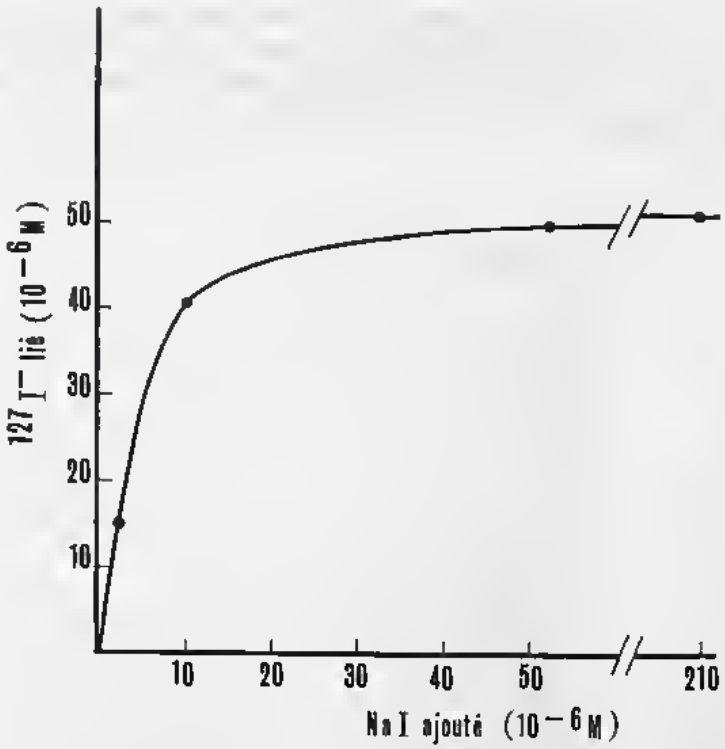


FIG. 20. — Relation entre la concentration en I^- du système de dialyse et la concentration de I^- lié à l'iodurophorine.

4. Effet de divers anions ou antithyroïdiens (LELOUP, 1964 *c* et résultats inédits)

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : Les sels de Na ou de K des anions simples (Br^-, I^-) ou complexes (OCN^-, NO_2^-, NO_3^-, SCN^-, BF_4^-, ClO_4^-) étudiés et les antithyroïdiens (thiourée, thiouracile) sont dissous dans le KRP sans Ca ni Mg, et ajoutés à du sang de Saumon adulte (50 µl d'une solution $3 . 10^{-1}$ M pour 1,5 ml de sang, soit une concentration finale : 10^{-2} M) ou introduit dans le système de dialyse d'équilibre par dilution dans le KRP pour obtenir la concentration désirée : 10^{-2} à 10^{-5}M.

RÉSULTATS : Le H/P (15 °C) ou le rapport de dialyse (4 °C) ne sont pas modifiés par le thiouracile ou la thiourée (tableau 34) inhibiteurs de l'oxydation de I^- dans la thyroïde. Ce résultat

TABLEAU 34

Influence des antithyroïdiens sur la liaison de l'iodure dans le plasma de Saumon

Saumon n°	Traitement				
	0	KSCN 10^{-2} M	$KClO_4$ 10^{-2} M	Thiourée 10^{-2} M	Thiouracile 10^{-3} M
	H/P				
1	0,33	0,63	—	0,30	—
2	0,28	0,61	0,50	0,29	—
3	0,15	0,60	0,55	0,15	—
4	0,18	0,59	0,63	0,20	—
5	0,19	0,60	0,64	0,20	—
	Rapport de dialyse				
6	5,7	1,01	1,01	5,3	5,6

Source : MNHN, Paris

est une nouvelle preuve de la nature ionique (I^-) de l'iode lié. Au contraire la liaison de ^{131}I est inhibée plus ou moins totalement par tous les anions essayés (tableau 34, fig. 21). D'après la figure 21, les anions peuvent être ainsi classés par ordre de pouvoir inhibiteur croissaut :

$$OCN^- < NO_2^- < Br^- < NO_3^- < SCN^- < I^- < BF_4^- < ClO_4^-$$

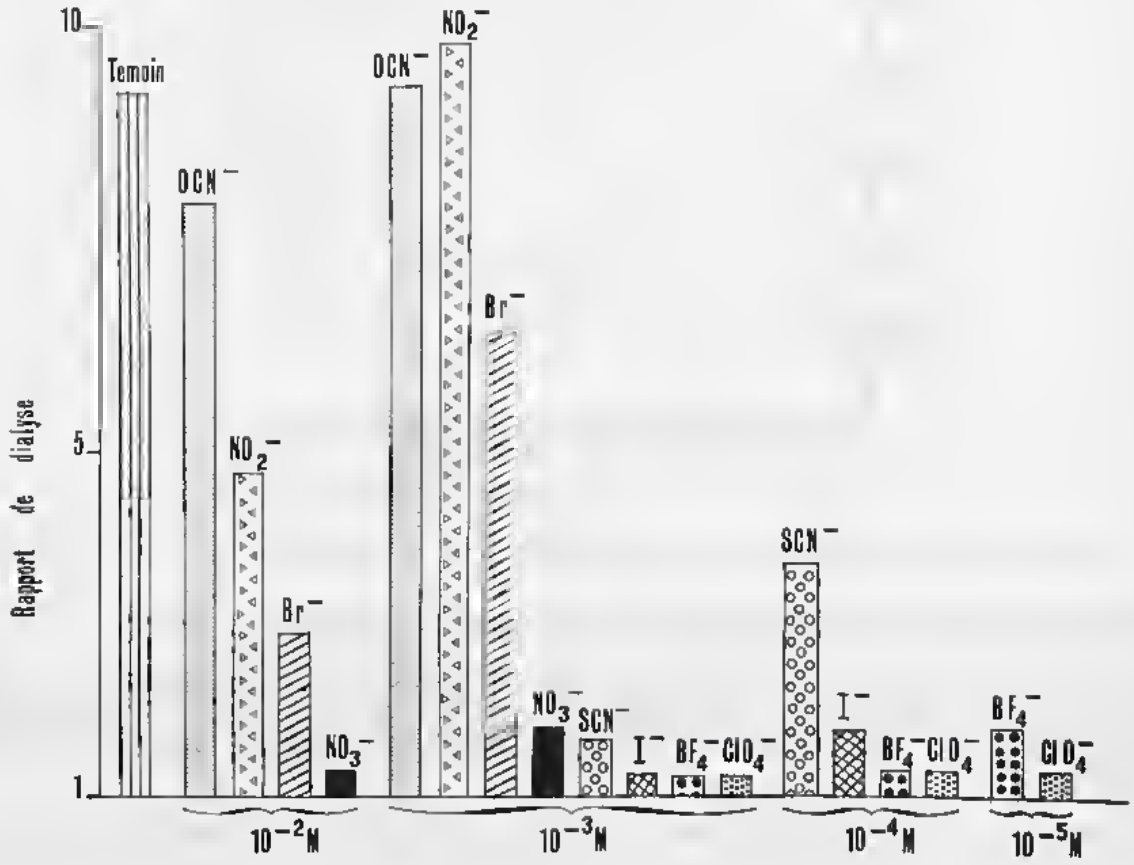


FIG. 21. — Effet de divers anions monovalents sur la liaison I^-- iodurophorine dans le plasma de Saumon.

5. Effet de l'acétylation de l'iodurophorine

En vue de préciser la nature moléculaire du processus de liaison, les protéines du plasma de Saumon ont été acétylées par l'anhydride acétique selon FRAENKEL CONRAT et *al.* (1949). L'acétylation bloque spécifiquement les groupements aminés libres des protéines (groupes ∈ amino des résidus de lysine) dont le rôle essentiel a été mis en évideuce pour la liaison d'un colorant anionique, méthyl orange (KLOTZ et URQUHART, 1949) ou de la thyroxine (STERLING et TABACHNICK, 1961; TABACHNICK, 1964) avec la sérumalbumine humaine ou bovine.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : Le plasma est dilué au demi, avec une solution saturée d'acétate de sodium. Des aliquotes (3 ml) sont traitées par 2,5, 5, 10, 20 ou 400 µl d'anhydride acétique ajoutés graduellement pendant 30' à 60', le mélange réactionnel étant maintenu dans un bain de glace.

Afin d'éliminer l'excès d'ions acétate et de ramener le pH à 7,4, les plasmas traités et témoins sont dialysés à 4 °C contre du tampon phosphate et soumis ensuite à la dialyse d'équilibre en présence de ^{131}I.

RÉSULTATS (fig. 22) : Le pourcentage de ^{131}I lié (^{131}I/ml plasma—^{131}I/ml dialysat/^{131}I/ml plasma) diminue graduellement avec le degré d'acétylation. La liaison est totalement abolie avec 400 µl d'anhydride acétique.

Source : MNHN, Paris

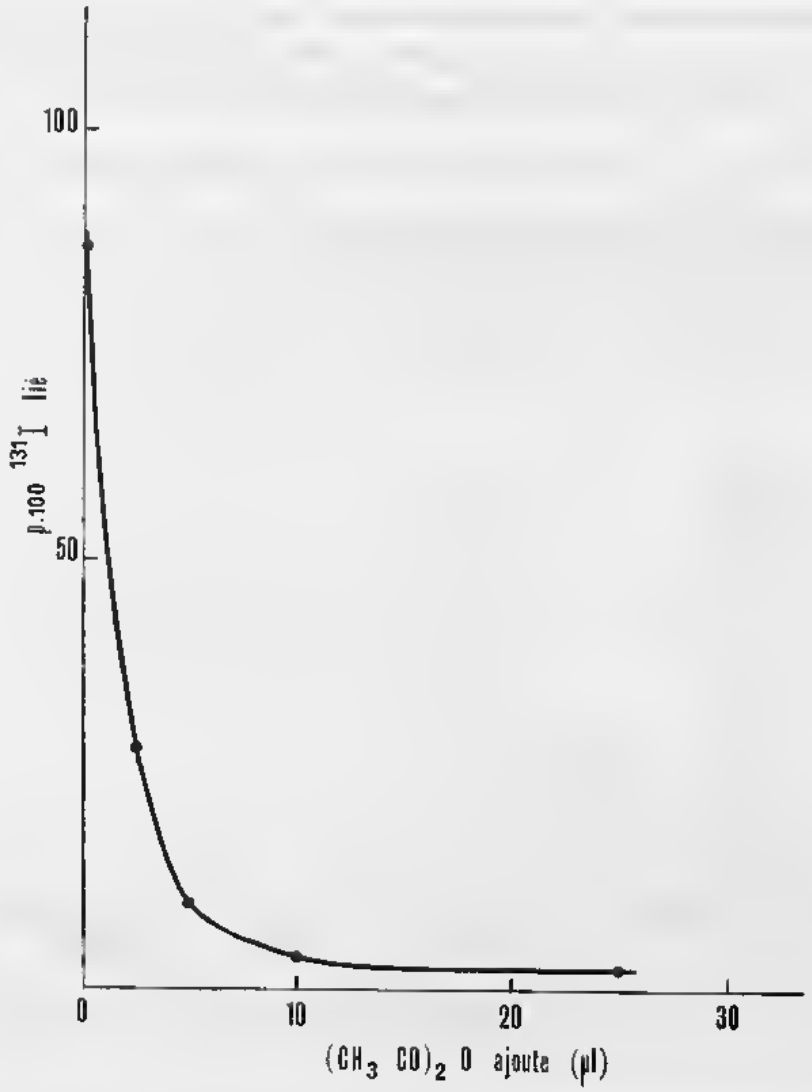


FIG. 22. — Effet de l'acétylation sur la liaison I^-- iodurophorine (Abscisse : quantité d'anhydride acétique pour 1,5 ml de plasma).

B. MESURE DE LA CONSTANTE D'ASSOCIATION

1. Traitement mathématique et protocole expérimental

Le traitement mathématique est analogue à celui utilisé par BOOTH et *al.* (1961) pour étudier l'interaction cortisol-transcortine.

Dans le système de dialyse d'équilibre, lorsque l'équilibre entre I^- à l'intérieur et à l'extérieur du sac de dialyse est atteint, on a, d'après la loi d'action de masse, la relation :

$$K = \frac{[PI]}{[P]\ [I]} \quad \text{ou} \quad [PI] = K\ [P]\ [I] \tag{1}$$

dans laquelle K est la constante d'association, [PI] et [I] les concentrations respectives, en moles par litre, d'iodure lié à, l'iodurophorine et d'iodure libre et [P] la concentration des sites libres de la protéine. [P] peut être remplacé par $[P_T] - [PI]$ $[P_T]$ étant la concentration totale des sites de liaison sur l'iodurophorine. La relation (1) devient alors :

$$[PI] = K[I]\ ([P_T] - [PI]) = K[I]\ [P_T] - K[I]\ [PI]$$

ou : $[PI] + K[I]\ [PI] = K[I]\ [P_T]$

et en divisant par $K[I]\ [P_T]\ [PI]$:

$$\frac{1}{K\ [P_T]\ [I]} + \frac{1}{[P_T]} = \frac{1}{[PI]} \tag{2}$$

Source : MNHN, Paris

L'addition de quantités croissantes d'iodure dans le système de dialyse modifie l'équilibre en augmentant le nombre ds sites de liaison occupés. En portant graphiquement les différsntes valeurs de $\frac{I}{[PI]}$ et $\frac{I}{[I]}$ obtenues, pour différentes concentrations de ^{127}I, on obtient une droite (fig. 23) dont la pente, d'après l'équation (2), est égale à $\frac{1}{K[P_T]}$ et dont l'intersection avec l'axe des ordonnées donne $\frac{I}{[P_T]}$ et celle avec l'axe des abscisses, K (exprimée en litres par mole puisque les concentrations sont en moles par litre).

Dans le système de dialyse, à l'équilibre, le rapport de dialyss :

$$R = \frac{[PI] + [I]}{[I]} \quad \text{d'où : } [PI] = (R - 1)\,[I] \tag{3}$$

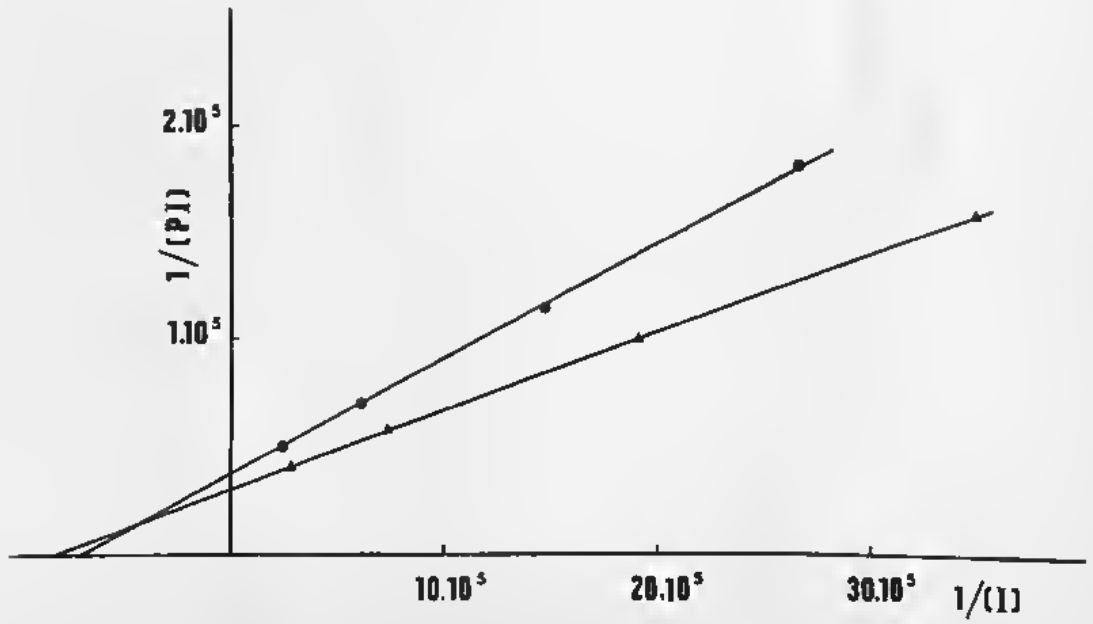


FIG. 23. — Relation de l'inverse des concentrations d'iodure libre [I] et d'iodure lié [PI] dans le système de dialyse pour deux plasmas de Saumon.

La dialyse est effectuée sur 1 ml de plasma contre 7,5 ml de solution saline, mais le volume dans le sac atteint 1,1 ml en fin d'expérience, fait déjà signalé par INGBAR et FREINKEL (1956). En conséquence la quantité totale d'iodure, I_1, dans le système exprimée en moles est :

$$I_1 = 1{,}1 \,.\, 10^{-3}[PI] + 8{,}5 \,.\, 10^{-3}[I] \tag{4}$$

En remplaçant dans (4), [PI] par sa valeur de la relation (3), on obtient :

$$[I] = \frac{I_1}{1{,}1 \,.\, 10^{-3} R + 7{,}4 \,.\, 10^{-3}} \tag{5}$$

Pratiquement, le rapport de dialyse est déterminé après addition, dans le système de dialyse de ^{131}I et, de 1, 2, 5 et 10µg ou 5, 10, 20 et 37,5 µg de ^{127}I(KI) suivant les plasmas. I_ℓ est égal à la somme de l'iodure exogène et de l'iodure du plasma étudié, préalablement déterminé par dosage chimique. La pente de la droite décrivant la relation $\frac{I}{[PI]}$ en fonction de $\frac{1}{[I]}$ est calculée par la méthode des moindres carrés et $[P_T]$ et K déterminés comme indiqué ci-dessus. $[P_T]$ est multiplié par 1,1 pour tenir compte de la dilution du plasma au cours de la dialyse.

La concentration de l'iodure libre dans le plasma original peut être calculée en substituant les valeurs mesurées de K et de $[P_T]$ dans l'équation (2) et en remplaçant [PI] par $[I_1] - [I]$, puisque dans le plasma non soumis à la dialyse $[PI] + [I] = [I_1]$, $[I_1]$ étant la concentration en iodure total du plasma .On obtient une équation du second degré :

$$K[I]^2 + (K[P_T] + 1 - K[I_\ell])\,[I] - [I_1] = 0 \tag{6}$$

dont la résolution donne [I]. Le pourcentage de I^- libre dans le plasma est alors égal à $\frac{[I]}{[I_\ell]}$ et le pourcentage de sites de liaison occupés égal à $\frac{[PI]}{[P_T]}$ ou $\frac{[I_\ell] - [I]}{[P_T]}$.

Source : MNHN, Paris

L'énergie de liaison iodurophorine - I^- peut être définie par la variation standard d'énergie libre ΔG^o et calculée pour une température donnée par la relation :

$$\Delta G^o = -RT \ln K$$

dans laquelle R est la constante des gaz et T la température absolue.

2. Résultats (Leloup, 1964 *c*)

La constante apparente d'association et les divers paramètres de l'interaction iodurophorine-I^- ont été mesurés sur des plasmas de Saumons adultes de montée, de frayères ou *mendeds*, soit à 4° (12 plasmas), soit à 16° (6 plasmas). Le tableau 35 présente les valeurs moyennes calculées à partir de toutes les données expérimentales. Les variations de l'interaction en fonction du stade migratoire seront envisagées ultérieurement; pour celles dues à la température, le test *t* est effectué uniquement sur les valeurs appariées des 5 plasmas étudiés simultanément à 4° et à 16°.

Tableau 35

Caractéristiques de la liaison iodurophorine-iodure chez le Saumon adulte

Température °C	Constante d'association K (l./Mol) × 10^{-5}	Concentration des sites de liaison [Pr] (Mol/l.) × 10^5	p. 100 d'iodure libre	p. 100 de sites de liaison occupés
4	6,64	3,44	4,90	4,40
17	3,37	3,37	8,87	4,28

Comme le laissaient prévoir les variations du rapport de dialyse en fonction de la température, mises en évidence ci-dessus, la constante moyenne d'association à 17° ($3{,}37.10^5$), est environ 2 fois plus faible que celle déterminée à 4° ($6{,}64.10^5$) ($P = 0{,}025$). Cependant, l'énergie de liaison, ΔG^o, n'est pas différente à 4° (— 7 380 cal/mole) et à 17° (— 7 336 cal/mole). La concentration des sites de liaison, ou capacité de liaison de l'iodurophorine, ne varie pas significativement avec la température et peut atteindre $5{,}3.10^{-5}$M/litre, soit 676 µg d'iodure pour 100 ml de plasma. Par suite de la diminution de l'affinité de l'iodurophorine pour I^- à 17°, le pourcentage d'iodure libre est plus élevé à 17° (8,9 p. 100) qu'à 4° (4,9 p. 100) ($P \neq 0{,}001$). Le pourcentage de sites occupés, toujours faible, puisqu'il ne dépasse pas 10 p. 100, diminue légèrement lorsque la température augmente.

La concentration moyenne des sites de liaison dans le plasma d'Alose (620 µg p. 100 ml) et de Truite de mer (560 µg p. 100 ml) est voisine de la concentration maximale mesurée chez le Saumon; celle du Muge, en eau douce, est nettement plus faible (297 µg p. 100 ml). Il n'est pas exclu cependant que la capacité de liaison puisse atteindre, chez l'Alose et la Truite de mer, un niveau beaucoup plus élevé, car ces valeurs sont obtenues sur des poissons très proches de la maturité génitale. Or, nous montrerons plus loin (chapitre 3) que cette capacité diminue considérablement chez le Saumon et la Truite arc-en-ciel sexuellement mûrs.

La constante d'association et $[P_T]$ ont été récemment mesurés (Huang et Hickman, 1968) chez le Corégone et le Brochet. La concentration des sites de liaison est du même ordre de grandeur que chez les Clupéiformes que nous avons étudiés; 576 et I 209 µg/100 ml respectivement. En revanche les constantes d'association sont environ 10 fois plus faibles ($0{,}81.10^5$ et $0{,}43.10^5$ à 4° respectivement) que chez le Saumon.

C. DISCUSSION

L'interaction de petites molécules ou d'ions avec une protéine soulève un certain nombre de questions que Scatchard (1949) a ainsi énoncées sous une forme abrégée : 1. Combien?; 2. Avec quelle force?; 3. Où?; 4. Pourquoi? En d'autres termes : 1. Combien d'ions sont-ils liés avec chaque molécule de protéine? 2. Quelle est l'affinité de la protéine pour l'ion? 3. Sur quels sites de la molécule de protéine la liaison a-t-elle lieu ou quelle est la nature de la liaison? 4. Quelle est la

Source : MNHN, Paris

signification physiologique de la liaison? Les réponses qui peuvent être apportées aux trois premières questions, dans le cas particulier de l'iodurophorine, seront successivement envisagées, celle relative à la quatrième faisant l'objet du chapitre suivant.

1. Nombre d'ions liés

La mesure du nombre d'ions I^- liés par molécule d'iodurophorine implique la connaissance du nombre de sites et, s'il y a lieu, du nombre de classes de sites de liaison (primaires, secondaires, etc.); ceux-ci ne peuvent être évalués qu'à partir d'une protéine pure, laquelle n'a pas encore été obtenue. Cependant, l'examen des donuées de la littérature sur la liaison d'ions ou de petites molécules à une protéine telle que la sérumalbumine, laquelle présente quelques analogies avec l'iodurophorine, permet d'apporter une réponse vraisemblable.

La sérumalbumine de Mammifère présente une certaine affinité pour l'ion I^- (et aussi pour d'autres anions : F^-, Cl^-, SCN^-, ClO_4^-) (Scatchard et *al.*, 1957; Carr, 1952) qui se traduit en dialyse d'équilibre par un rapport de dialyse légèrement supérieur à l'unité (Ingbar et Freinkel, 1956). La sérumalbumine lie également la thyroxine (Robbins et Rall, 1957). Dans tous ces cas, il existe un site primaire de forte affinité accompagné de plusieurs sites secondaires ou tertiaires de beaucoup plus faible affinité (Scatchard et *al.*, 1957; Tritsch et *al.*, 1961; Saifer et *al.*, 1964). Il est donc vraisemblable qu'il en est de même pour l'iodurophorine. Il est d'ailleurs possible de montrer que l'hypothèse d'un site principal de liaison n'est pas incompatible avec les données expérimentales obtenues chez le Saumon.

La localisation de l'iodurophorine dans le pic « d'albumine », par filtration sur Sephadex, implique que la concentration de cette protéine soit inférieure à la concentration totale de protéines dans ce pic puisque celui-ci correspond à un mélange de protéines (cf. le décalage d'un tube dans les maximums de protéine et d'iodure). La concentration de la fraction « albumine » peut être estimée à partir de la protéinémie et du rapport des surfaces du pic d'albumine et des protéines totales sur le diagramme d'élution du plasma sur Sephadex. La concentration maximale de l'iodurophorine (correspondant à un seul site de liaison) peut être évaluée à partir de la concentration molaire des sites de liaison (P_T) si l'on admet un poids moléculaire de 69 000 pour cette protéine. Si cette valeur calculée est supérieure à la concentration d' « albumine », l'hypothèse d'un seul site principal devra être rejetée. Tel n'est pas le cas comme le montrent les résultats obtenus sur deux plasmas de Saumons de frayères (tableau 36). La fraction « albumine », qui représente 10 à 13 p. 100 des protéines totales, est environ 2 fois plus élevée que l'iodurophorine.

Tableau 36

Comparaison de la concentration de l' « albumine »
et de la concentration maximale de l'iodurophorine dans le plasma de Saumon

Saumon	Concentration des sites de liaison (P_T) (Mol/l.) $\times 10^5$	Iodurophorine (g/L)	Protéines totales (g/l.)	« Albumine » (g/L)
1	3,05	2,13	38,12	4,87
2	3,56	2,48	44,38	4,36

2. Affinité de l'iodurophorine

La constante apparente d'association mesurée pour l'iodurophorine du Saumon représente la somme des différentes constantes de liaison multipliées chacune par le nombre de sites correspondants. Bien que ces paramètres soient inconnus, il est possible de comparer la constante globale avec celle mesurée pour l'interaction de I^- avec la sérumalbumine. L'affinité de l'iodurophorine à 16° est environ 45 fois supérieure à celle de la sérumalbumine dont la somme des constantes pour tous les sites est à une température analogue ($20 \pm 2°$) égale à 7 700 (Saifer et *al.*, 1964).

Source : MNHN, Paris

L'iodurophorine se différencie également de la sérumalbumine par le fait qu'elle ne semble pas lier Cl^- alors que l'affinité de Cl^- pour la protéine mammalienne est seulement 4 fois plus faible que pour I^- (Scatchard et *al.*, 1957).

L'augmentation de l'affinité de l'iodurophorine en raison inverse de la température, confirmée par Huang et Hickman (1968), n'est pas particulière à cette protéine mais s'observe également pour la liaison de la thyroxine à l'albumine (Sterling et *al.*, 1962) ou du cortisol à la transcortine (Mills, 1961; Daughaday et Mariz, 1961). Si la signification physiologique de cette influence de la température est peu évidente chez les Homéothermes, il peut ne pas en être de même pour les Poïkilothermes vivant à des températures variables. Ce point sera envisagé plus loin.

Il est intéressant également de remarquer que l'affinité de l'iodurophorine est maximale au pH physiologique du milieu intérieur et varie peu entre pH 7 et 9. Une zone d'affinité maximale dans les mêmes limites de pH a également été observée pour la liaison de I^- (Saifer et Steigman, 1961) et de la thyroxine (Tabachnick, 1964) à la sérumalbumine. Nos résultats relatifs à l'influence du pH diffèrent toutefois nettement de ceux apportés par Huang et Hickman (1968) pour le plasma de Brochet. Alors que nous observons une variation continue d'affinité (très faible en deçà de pH 6,9, l'affinité est maximale entre 7,4 et 8,7 et diminue ensuite) ces auteurs décrivent des variations discontinues de ce paramètre qui est maximal à pH 5 et 7 et considérablement réduit entre ces deux pH et au-delà de pH 7. Il est très vraisemblable que cette divergence résulte d'une interférence des tampons utilisés sur le processus de liaison. Une telle influence a été mise en évidence pour la liaison d'un colorant anionique le méthylorange avec la sérumalbumine; elle est fonction de la concentration du tampon, d'une part, et de la nature de l'anion tampon, d'autre part (Klotz, 1949). Dans nos expériences, l'interférence des tampons est minimisée par dilution de ceux-ci au 1/5 environ dans une solution de chlorures. Dans les expériences des auteurs canadiens, les tampons ne sont pas dilués et de plus, ceux utilisés au-delà de pH 7, véronal et carbonate, diminuent considérablement, spécialement le véronal, la liaison méthylorange-albumine (Klotz, 1949).

3. Nature des sites de liaison

Les sites spécifiques de liaison de I^- sur l'iodurophorine sont inconnus de même que ceux de la plupart des petites molécules liées à l'albumine. Par analogie avec le comportement de colorants anioniques (Klotz et Urquhart, 1949), ou de la thyroxine (Sterling et Tabachnick, 1961; Tabachnick, 1964), avec la sérumalbumine, une interaction électrostatique de I^- avec les groupes cationiques NH_3^+ libres de la protéine (groupe ϵ-amino des résidus de lysine) pouvait être envisagée. La diminution progressive de la liaison en fonction du degré d'acétylation (qui bloque les groupes aminés libres) de l'iodurophorine (fig. 22) plaide en faveur de cette hypothèse. De même la diminution de la liaison au-delà de pH 8,7 pourrait résulter d'une perte de protons des groupes NH_3^+ qui deviennent NH_2.

L'inhibition de la liaison I^--iodurophorine par un certain nombre d'anions monovalents soulève la question de la nature compétitive ou non de cette inhibition. La nature compétitive a été démontrée, dans le cas de SCN^- et ClO_4^-, par dialyse d'équilibre de plasma de Saumon en présence de différentes concentrations de $^{127}I^-$ avec et sans inhibiteur. Les droites décrivant la relation entre $\frac{1}{[I]}$ et $\frac{1}{[PI]}$ pour le témoin, ClO_4^- et SCN^- se coupent en un même point sur l'axe des ordonnées (fig. 24); à concentration infinie en substrat (I^-) la capacité maximum est donc identique en absence ou en présence d'inhibiteur et par conséquent l'inhibition est compétitive. Il en est vraisemblablement de même pour les autres anions étudiés.

Huang et Hickman (1968) ont également étudié l'action inhibitrice de divers anions sur la liaison de I^- dans le plasma de Truite, de Corégone et de Brochet. D'après leurs données Br^- n'affecte pas la liaison et l'ordre de pouvoir inhibiteur est : $NO_3^- < SCN^- < I^- = ClO_4^-$. Nous avons montré que Br^- inhibe la liaison et que ClO_4^- est beaucoup plus actif que I^-. La divergence entre nos résultats et ceux de Huang et Hickman s'explique par le fait que ces auteurs n'utilisent qu'une seule concentration d'inhibiteur (10^{-3} M), laquelle met peu en évidence un faible pouvoir inhibiteur (Br^-) et ne permet pas de dissocier le niveau d'activité d'inhibiteurs puissants (I^- et ClO_4^-).

Source : MNHN, Paris

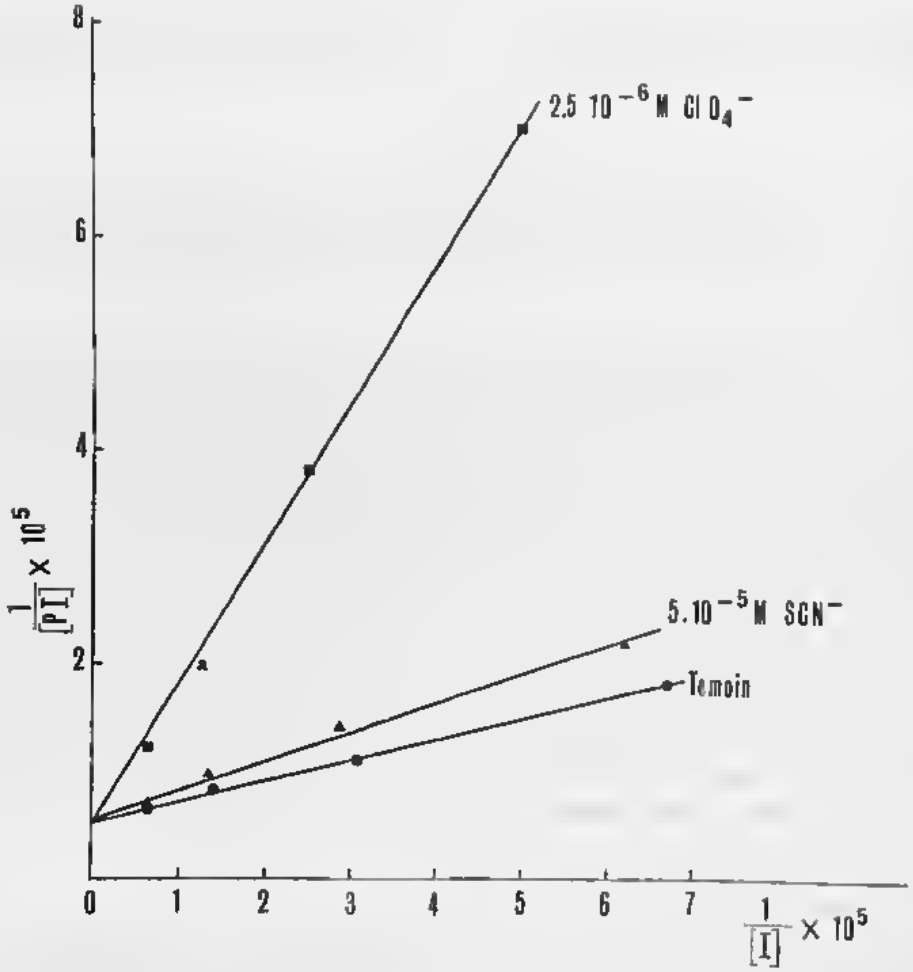


FIG. 24. — Nature compétitive de l'inhibition par SCN^- et ClO_4^- de la liaison I^--iodurophorine. Diagramme de l'inverse des concentrations de I^- libre [I] et lié [PI]

L'ordre de pouvoir inhibiteur croissant des anions monovalents sur la liaison de I^- ($OCN^- < NO_2^- < Br^- < NO_3^- < SCN^- < I^- < BF_4^- < ClO_4^-$) est très voisin de celui rapporté par WOLFF et MAUREY (1963) pour le transport thyroïdien d'iodure ($OCN^- \neq Br^- < NO_2^- < NO_3^- < I^- < SCN^- < BF_4^- < ClO_4^-$). Ces auteurs trouvent une relation linéaire entre le pouvoir inhibiteur (exprimé par le $pK = -\log K_I$ ou K_M, constantes de type Michaelis) et la taille de l'anion (exprimée par le volume molaire partiel Φ_O[1], c'est-à-dire le volume occupé par l'anion en solution à dilution infinie) et suggèrent que ce dernier paramètre est un facteur déterminant de l'activité de l'anion, sur le transport thyroïdien de I^-. La similitude observée ci-dessus indique qu'il en est vraisemblablement de même pour la liaison I^--iodurophorine.

Si la taille de l'anion est importante, d'autres facteurs sont susceptibles d'intervenir, notamment la forme de celui-ci. En fait l'ordre d'inhibition observé, dans le cas de l'iodurophorine, présente deux divergences majeures avec l'ordre des tailles : d'une part Br^-, dont le Φ_O est pratiquement identique à ceux de OCN^- et NO_2^-, est un inhibiteur plus puissant que ces deux ions, d'autre part I^-, dont le Φ_O est plus faible que celui de SCN^-, a plus d'affinité pour l'iodurophorine que ce dernier. Or Br^- et I^- sont des ions sphériques [1] alors que OCN^- et SCN^- sont linéaires et NO_2^- angulaire. Si l'on admet que la sphéricité augmente l'affinité de liaison des anions pour l'iodurophorine, les deux divergences précitées sont supprimées. Il apparaît donc que cette affinité est fonction, selon toute vraisemblance, à la fois de la taille et de la structure des anions.

1. Le volume molaire partiel Φ_O (ml/mole) et la structure des anions étudiés sont respectivement : OCN^- (26,7, linéaire), NO_2^-(25, angulaire), Br^- (25,1, sphérique), NO_3^- (29,4, plan), SCN^- (40,6, linéaire), I^- (36,7, sphérique), BF_4^- (44, tétraédrique), ClO_4^- (44,5, tétraédrique). (D'après WOLFF et MAUREY, 1963).

Source : MNHN, Paris

III. CONCLUSIONS

1. L'ion I^- est lié dans le plasma de certains Téléostéens avec une protéine, différente de celle liant la thyroxine, et présentant certaines analogies (migration en électrophorèse sur papier, filtration sur gel de dextrane, précipitation par un sel neutre) avec la sérumalbumine de Mammifère. Nous avons proposé, pour cette protéine, dont le poids moléculaire peut être estimé à environ 69 000, le nom d'iodurophorine.

2. L'affinité de liaison de I^- varie en raison inverse de la température et elle est maximale entre pH 7,4 et 8,7 donc au pH physiologique du milieu intérieur.

3. La constante apparente d'association de l'iodurophorine de Saumon est de $6{,}64 . 10^5$ l/mole à 4 °C et $3{,}37 . 10^5$ l/mole à 16 °C. La concentration maximale des sites de liaison est du même ordre de grandeur, 560 à 676 µg I^-/100 ml de plasma, chez le Saumon, la Truite de mer et l'Alose. Le pourcentage de sites de liaison occupés est toujours faible chez le Saumon et ne dépasse pas 10 p. 100.

4. La liaison n'est pas affectée par les antithyroïdiens de type thiourée ou thiouracile mais elle est inhibée compétitivement par divers anions monovalents. L'ordre de pouvoir inhibiteur croissant ($OCN^- < NO_2^- < Br^- < NO_3^- < SCN^- < I^- < BF_4 < ClO_4^-$) indique que l'affinité de liaison est fonction de la taille et de la structure de l'ion.

5. L'acétylation progressive des groupements aminés libres de l'iodurophorine réduit puis supprime totalement la liaison de I^-. Les groupes cationiques (NH_3^+) des résidus amino-acides basiques de la protéine pourraient donc être les sites de liaison.

Source : MNHN, Paris

CHAPITRE III

ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE DE L'IODUROPHORINE

Comme nous l'avons indiqué dans le chapitre précédent, nous tenterons d'apporter ici une réponse à la question de la signification physiologique de la liaison de l'iodure. Nous aborderons ce problème par l'étude des variations physiologiques de la liaison. La discussion de ces variations en fonction de l'état physiologique, et spécialement endocrinien, nous conduira à l'étude expérimentale du rôle physiologique de l'iodurophorine, d'une part, et de la régulation endocrinienne de cette protéine, d'autre part.

I. VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES DE LA LIAISON DE L'ION I⁻

Celles-ci ont été recherchées chez le Saumon au cours de son cycle migratoire, chez la Truite arc-en-ciel (poids : 125 à 200 g) à divers degrés d'évolution génitale, et chez le Muge soumis à un changement de milieu.

Pour chaque espèce, le pouvoir de liaison est exprimé par le H/P et le rapport de dialyse R(^{131}I sans entraîneur) et, dans certains cas, par la capacité de liaison (P_T). Les pourcentages d'iodure libre et de sites de liaison occupés et la teneur en iodure libre ont été calculés chez le Saumon adulte par résolution de l'équation (6) (*cf.* Chapitre 2). Enfin, l'iodurémie et la protéinémie ont été déterminées chez le jeune Saumon au printemps et chez le Saumon adulte. Dans le cas du jeune Saumon, ces dosages, de même que la mesure du H/P ou de R, sont réalisés sur des mélanges de sangs ou de plasmas de plusieurs individus.

A. SAUMON (tableau 37, fig. 25) (Leloup et Fontaine, 1960 et résultats inédits).

Chez le jeune Saumon, la liaison est faible chez le *parr* ♂ mûr d'hiver (H/P élevé, R faible). Elle augmente très significativement chez le *parr* ♂ de printemps dont les gonades ont régressé, diminue chez le *parr smolt* en cours de *smoltification* ($P < 0,05$ pour le H/P) et augmente de nouveau chez le *smolt* où elle est significativement plus élevée que chez le *parr* de printemps (H/P : $P < 0,05$) et le *parr smolt* (H/P : $P < 0,01$, R : $P < 0,05$).

C'est chez le Saumon de montée que le pouvoir de liaison atteint sa valeur maximale. Il diminue considérablement (H/P doublé, $P < 0,001$, R deux fois moindre, $P < 0,001$) chez le Saumon frayant. Une nouvelle diminution est enregistrée chez le *mended*, en migration de descente, mais elle est de plus faible amplitude ($P < 0,05$ pour R). Une augmentation très importante de la liaison est observée chez le *mended* après un transfert expérimental progressif d'eau douce en eau de mer étalé sur 48 heures et un séjour de même durée en eau de mer pure. Le H/P égal en moyenne à 0,217 en eau douce n'est plus que de 0,064 en eau de mer.

Il n'existe pas de différence sexuelle significative du pouvoir de liaison chez le Saumon de montée ou le Saumon frayant. Le H/P et R sont respectivement de $0,110 \pm 0,011$ et $29,35 \pm 6,93$ chez le ♂ de montée, de $0,100 \pm 0,010$ et $28,02 \pm 3,38$ chez la ♀ de montée, de $0,219 \pm 0,029$ et $15,67 \pm 1,68$ chez le ♂ de frayères, de $0,222 \pm 0,011$ et $11,74 \pm 0,65$ chez la ♀ de frayères. En revanche, le pouvoir de liaison est significativement plus faible ($P < 0,05$) chez le mended ♂ ($R = 8,86 \pm 0,56$) que chez la ♀ ($R = 13,11 \pm 1,02$). Ce fait peut être mis en relation avec l'état physiologique plus déficient des *mendeds* ♂ qui représentent, d'après Jones (1959), seulement 10 p. 100 des *mendeds* retournant en mer.

Les variations du pouvoir de liaison chez le Saumon adulte se traduisent par des fluctuations de la capacité de liaison (P_T), des pourcentages d'iodure libre et de sites de liaison occupés et de la concentration d'iodure libre du plasma. La capacité de liaison (fig. 25), maximale au début de la montée ($560 \pm 46,3$ µg I p. 100 ml), diminue significativement ($P < 0,025$) sur les frayères ($387 \pm 29,1$) et de nouveau chez le *mended* ($316 \pm 29,6$) mais non significativement. Le pourcentage d'iodure libre, à 4°, augmente graduellement du Saumon de montée ($3,87 \pm 0,49$) au Saumon de frayères ($4,98 \pm 0,65$) et au *mended* ($6,51 \pm 0,35$) ($P < 0,01$ par rapport au Saumon de montée). La teneur en iodure libre (fig. 25) calculée à partir des iodurémies des Saumons expérimentés, est, à 4°, de $1,63 \pm 0,30$ µg ^{127}I p.(100 ml chez le Saumon de montée; elle diminue d'environ un facteur 3 chez le Saumon frayant ($0,50 \pm 0,06$) ($P < 0,02$) et de nouveau, mais faiblement, chez le *mended* ($0,40 \pm 0,015$). A 17°, la teneur en iodure libre est plus élevée, 2,71 µg chez le Saumon de montée, mais les variations au cours de la migration sont d'amplitude analogue à celles mesurées

Source : MNHN, Paris

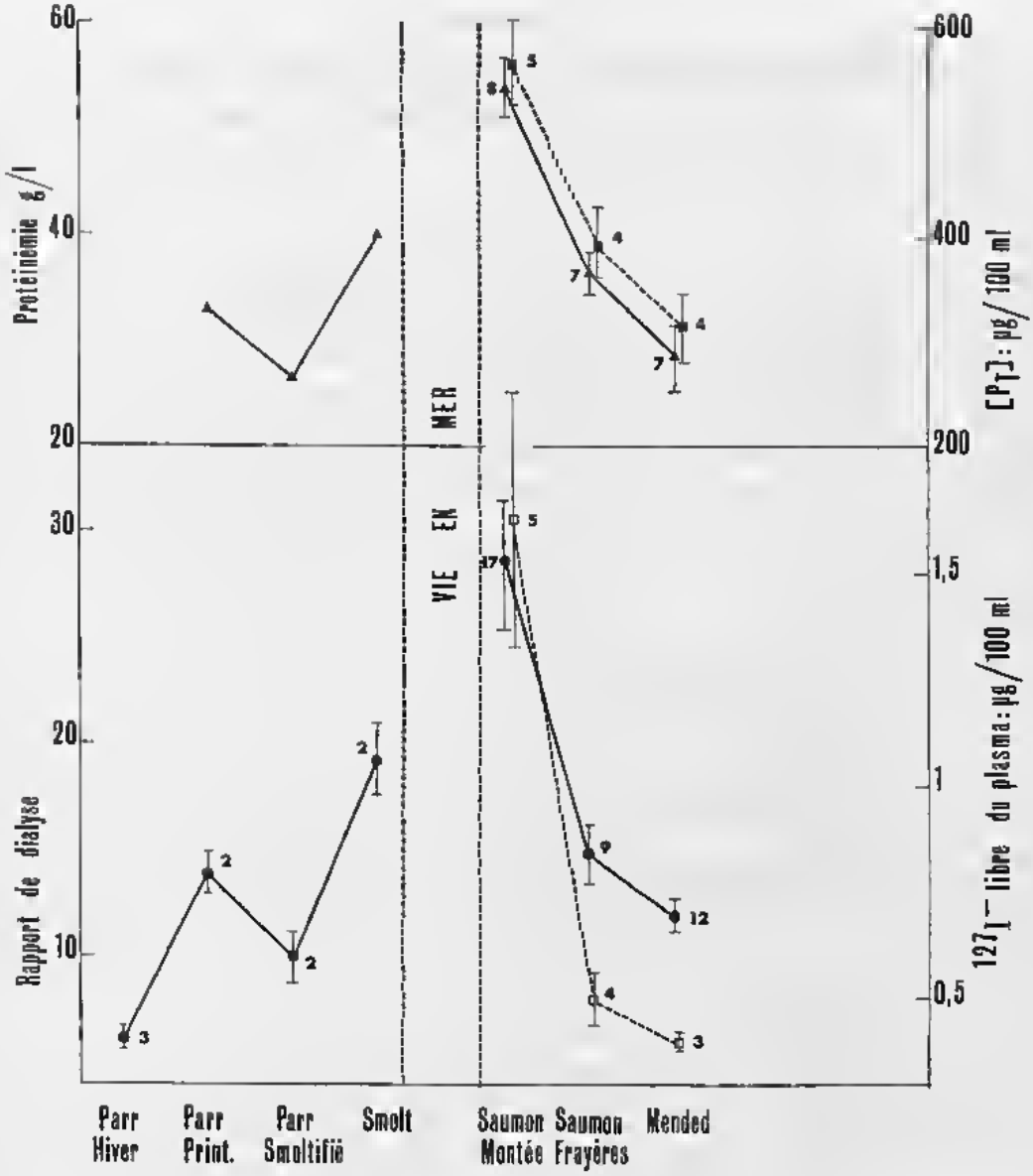


FIG. 25. — Variations de la liaison de I^- (● : rapport de dialyse; ■ : P_T, capacité de liaison) et des teneurs en $^{127}I^-$ libre (□) et en protéines (▲) dans le plasma de Saumon au cours du cycle migratoire.

à 4°. Enfin, le pourcentage des sites de liaison occupés, 7,38 ± 1,05 à 4° chez le Saumon de montée, n'est plus que de 2,48 ± 0,19 au moment de la fraye ($P < 0,01$) et 1,97 ± 0,23 chez le *mended* ($P < 0,01$).

B. TRUITE (tableau 37)

L'importance de la liaison apparaît diminuer graduellement pour les deux sexes en fonction de la maturité sexuelle. Les fluctuations sont cependant d'amplitude plus forte chez la ♀. Le pouvoir de liaison est nettement plus faible chez la ♀ très évoluée (H/P = 0,312) ou mûre (0,418) que chez le ♂ mûr (H/P = 0,207).

C. MUGE (tableau 37)

Chez le Muge, en eau douce, le pouvoir de liaison semble également plus faible, chez les poissons présentant un début de développement génital, que chez l'individu immature. Le transfert de Muges d'eau très légèrement saumâtre (1 g NaCl par litre) en eau de mer détermine, après 3 à 5 jours, une diminution du pouvoir de liaison concomitante d'une chute de la capacité de liaison de 297 à 92 µg I^- par 100 ml.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 37

Variations physiologiques du pouvoir de liaison des iodures

Espèce et stade saison ou milieu	État génital et sexe	H/P	Rapport de dialyse	$\frac{\mu g^{(*)}I^-}{100ml\ plasma}$
Saumon				
Parr d'hiver.....	♂ mûrs	0,33 ± 0,01 (9)	6,15 ± 0,50 (3)	4,43 ± 1,17 (6)
Parr de printemps.	♂ régressés.	0,19 ± 0,006 (3)	13,93 ± 0,9 (2)	2,55 ± 0,32 (5)
Parr Smolt.....	♂ régressés.	0,255 ± 0,02 (4)	9,92 ± 1,22 (2)	2,00 ± 0,22 (5)
Smolt.....	♂ régressés et ♀ immatures.	0,16 ± 0,007 (3)	19,30 ± 1,7 (2)	6,55 ± 1,33 (6)
Montée	♂ et ♀, début de maturation.	0,105 ± 0,008 (17)	28,46 ± 3,04 (12)	84,3 ± 7,6 (39)
Frayères.....	♂ et ♀ mûrs.	0,220 ± 0,019 (9)	14,82 ± 1,39 (14)	12,6 ± 1,11 (39)
Mended (eau douce)	♂ et ♀, repos.	0,217 ± 0,010 (12)	11,90 ± 0,90 (14)	6,6 ± 1,11 (8)
Mended (eau de mer) .	♀, repos.	0,064		23,3
Truite arc-en-ciel				
Automne.....	♂, RGS : 4,70.	0,173		
	♂, RGS : 5,67.	0,176		
	♂ mûrs, RGS : 8,23.	0,207		
	♀ immature, RGS : 0,12.	0,173		
	♀ évoluée, RGS : 8,37 ⌀ des ovocytes : 2,5 mm.	0,312		
Hiver	♀, évolution moyenne.	0,274		
	♀ mûre.	0,418	3,1	
Printemps ,.....	2 ♀, ⌀ œufs : 1 mm. et 2 ♂ peu évolués.	0,224	18,55	
	4 ♂, ⌀ œufs : 1 mm.	0,230	14,50	
Muge				
Été (Eau douce).	Immatures.	0,20	9,9	
— —	♂ moyennement évolué.	0,27	5,0	
— —	♂ moyennement évolué.	0,35	5,5	
(Eau de mer)	Immature.	—	1,2	
— —	Immature.	0,44	2,6	

D. DISCUSSION

Les variations du pouvoir de liaison observées chez les trois espèces étudiées ne sont pas dues à des modifications de l'affinité de l'iodurophorine pour I^-. En effet, chez le Saumon adulte, dont le pouvoir de liaison varie considérablement du stade montée aux stades frayères et *mended*, la constante d'association ne varie pas sensiblement. Elle est en moyenne, à 4 °C, respectivement égale à 6,63, 6,85 et 6,36.10^5 litres/mole chez le Saumon de montée, de frayères et *mended*. En revanche, l'examen de la figure 25 met en évidence, chez le Saumon adulte, un parallélisme des variations de R et de la concentration des sites de liaison (ou capacité de liaison), P_T, indice de l'existence vérifiée par le calcul, d'une corrélation positive entre ces deux paramètres ($r = + 0,946$, $dl = 9$, $P < 0,01$). De même, chez le Muge, P_T varie en fonction de R : $P_T = 297$ µg pour $R = 5,5$ et 92 µg pour $R = 2,6$. Pour chaque espèce, le pouvoir de liaison, exprimé par R (ou le H/P) dépend donc de la capacité de liaison P_T et, par suite, de la concentration de l'iodurophorine.

Chez le Saumon, quel que soit le stade, les variations de R ou P_T paraissent concomitantes de celles de la protéinémie (fig. 25). Cette dernière, en moyenne de 32,8 g par litre chez le *parr* de printemps, s'abaisse à 26,5 g chez le *parr smolt* et atteint 39,6 g chez le *smolt*. Au début de la montée reproductrice, la protéinémie est de 53,66 ± 2,55 g par litre. En accord avec les données anté-

Source : MNHN, Paris

rieures de FONTAINE et *al.*, (1950), elle diminue considérablement sur les frayères où sa valeur moyenne n'est plus que de 36,48 ± 2,07 ($P < 0,001$). Une nouvelle diminution est observée chez le *mended*, 28,37 ± 3,15 g par litre ($P \# 0,05$). Le calcul effectué à partir des valeurs individuelles obtenues pour le Saumon adulte indique l'existence de corrélations positives très significatives entre R et la protéinémie ($r = + 0,686$, dl : 13, $P < 0,01$) ou entre P_T et la protéinémie ($r = +0,915$, dl : 5, $P < 0,01$).

Bien que certaines des variations observées dans le pouvoir de liaison soient indépendantes de l'état génital (jeune Saumon de printemps, *mended* ou Muge transféré d'eau douce en eau de mer), la diminution de la liaison observée au moment de la maturité génitale chez la Truite arc-en-ciel, le Saumon adulte ♂ et ♀, et le *parr* ♂ d'hiver pouvait suggérer une intervention des hormones sexuelles dans la régulation de l'iodurophorine. Chez certains Mammifères, une telle intervention a été démontrée pour la CBG et la TBG dont les capacités de liaison sont considérablement augmentées pendant la gestation et par administration d'oestrogènes en quantités importantes, les androgènes ayant un effet inverse (*cf.* RALL et *al.*, 1964; DAUGHADAY, 1967). La teneur en oestrogènes du sang du Saumon adulte du bassin de l'Adour a été déterminée par CEDARD et *al.*, (1961); elle est faible chez le Saumon de montée, s'élève considérablement chez le Saumont frayant et redevient faible chez le *mended*. Il n'apparaît pas exister de différences significatives liées au sexe. La chute de la capacité de liaison chez le Saumon mûr, alors que l'imprégnation oestrogénique est maximale, et la nouvelle diminution chez le *mended*, concomitante d'une réduction considérable de la teneur en œstrogènes, indiquent que ces hormones ne contrôlent pas le niveau de l'iodurophorine et que la relation entre l'évolution génitale et le pouvoir de liaison n'est qu'apparente.

En fait, il existe, chez le Saumon, un parallélisme remarquable entre les variations du pouvoir de liaison et celles de l'activité thyroïdienne évaluée par la mesure de la sécrétion hormonale. Celle-ci, faible chez le *parr* d'hiver, (résultats inédits), augmente chez le *parr* de printemps, s'élève de nouveau chez le *parr smolt* et beaucoup plus encore chez le *smolt* (LELOUP et FONTAINE, 1960). Très importante chez le Saumon de montée, elle est environ 4 fois plus faible chez le Saumon frayant, s'abaisse encore chez le *mended* en eau douce et se rétablit au niveau du Saumon de montée chez le *mended* en eau de mer (LELOUP et FONTAINE, 1960; FONTAINE et LELOUP, 1962). En outre, l'activité thyroïdienne apparaît plus faible, en eau douce, chez le *mended* ♂ que chez la ♀ dont le pouvoir de liaison est significativement plus élevé que celui du ♂. De même, le fonctionnement thyroïdien (fixation thyroïdienne de ^{131}I, pourcentage d'iodothyronines marquées) est moins intense chez la Truite ♀ très évoluée (H/P = 0,312) que chez la ♀ immature (H/P = 0,173). La seule divergence entre l'activité thyroïdienne et le pouvoir de liaison est observée chez le *parr smolt* où ces deux paramètres varient en sens inverse. Or, la *smoltification* s'accompagne d'une accélération de la croissance impliquant une hypersécrétion d'hormone somatotrope (FONTAINE, 1960) rendue vraisemblable par l'augmentation du pourcentage des cellules fuchsinophiles de l'hypophyse lors de cette transformation (FONTAINE et OLIVEREAU, 1949; OLIVEREAU, 1954). Il est donc possible que cette stimuline hypophysaire intervienne dans la régulation de l'iodurophorine. Dans cette hypothèse, le niveau de cette protéine résulterait d'une balance entre une action stimulante des hormones thyroïdiennes et une action dépressive de l'hormone somatotrope.

L'effet opposé sur le pouvoir de liaison, déterminé par le transfert d'eau douce en eau de mer chez le *mended* (augmentation) et chez le Muge (diminution) ne peut être actuellement expliqué; il indique toutefois que la teneur du plasma en iodurophorine semble indépendante de la teneur en iode du milieu. Ce fait a été confirmé expérimentalement sur des Truites arc-en-ciel maintenues 5 jours dans une eau à 100 µg $^{127}I^-$/l, puis 14 jours dans une eau à 200 µg $^{127}I^-$/l. Le rapport de dialyse d'équilibre, mesuré après trois dialyses successives des plasmas contre un grand volume de solution saline isotonique pour éliminer tout l'iodure stable, n'est pas différent pour les Truites dans le bain d'iodure (R = 9,12 ± 0,84) et pour les témoins (R = 9,61 ± 0,63) (tableau 44).

II. SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE DE LA LIAISON DE L'ION I^-

Il est admis (RALL et *al.*, 1964; ROBBINS et RALL, 1967) que les protéines plasmatiques liant la T_4, spécialement la TBG, déterminent le niveau de T_4 circulante, contrôlent la distribution d'hormone dans les tissus, enfin, représentent un mécanisme de réserve hormonale limitant l'excrétion. Des rôles similaires ont été attribués à la CBG (de MOOR et *al.*, 1968). Par analogie, il était

Source : MNHN, Paris

permis d'inférer une influence régulatrice de l'iodurophorine sur l'iodurémie et le métaholisme des iodures. En outre, par suite de l'environnement aquatique, un rôle de l'iodurophorine dans l'absorption des iodures, suggéré par certains résultats expérimentaux (*cf.* 1re partie) méritait d'être envisagé.

A. IODUROPHORINE ET IODURÉMIE TOTALE

Il semhle exister, chez les Téléostéens, une relation entre l'iodurophorine et le niveau de l'iodurémie. En effet, les espèces possédant cette protéine présentent des iodurémies moyennes ou maximales supérieures à celles des autres espèces vivant dans le même milieu (*cf.* tableau 1) : c'est le cas, en eau douce, du Brochet, de la Truite arc-en-ciel ou du Corégone, par rapport aux Cypriniformes. En eau de mer, l'iodurémie du Muge dépasse celle de la plupart des autres espèces marines. Enfin, le cas des migrateurs amphibiotiques potamotoques capturés en eau douce, au début de leur migration de reproduction, est particulièrement significatif; ces migrateurs (Alose, Saumon, Truite de mer) possédant tous l'iodurophorine ont, comme nous l'avons signalé précédemment, des iodurémies supérieures à celles de toutes les espèces dulçaquicoles ou marines étudiées jusqu'ici.

La relation iodurophorine-iodurémie est nette chez le Saumon au cours de son cycle migratoire. La comparaison de R (ou de P_T) et de l'iodurémie totale chez le jeune Saumon au printemps, d'une part, chez le Saumon adulte en eau douce, d'autre part (tableau 37), met en évidence des fluctuations parallèles de ces paramètres. Il existe une corrélation très significative ($r = + 0{,}850$, $dl = 11$, $P < 0{,}01$) entre R et l'iodurémie du Saumon adulte pour lequel le calcul a pu être effectué. Le fait que l'iodurémie du *parr* d'hiver soit supérieure à celle du *parr* de printemps ou du *parr-smolt* alors que son pouvoir de liaison est plus faible (tableau 37) n'est pas en contradiction avec cette relation. En effet, comme nous l'avons signalé antérieurement, l'iodurémie est fonction de l'apport d'iode alimentaire et de la teneur en iodure du milieu extérieur. Or, les *parrs* ♂ d'hiver sont pêchés sur les frayères où ils fécondent, concurremment avec les gros Saumons ♂, les œufs émis par les ♀, tout en se nourrissant abondamment de ces œufs (Fontaine, 1948) lesquels sont riches en iode (36 µg ^{127}I p. 100 g, résultats inédits). De même, l'iodurémie du Saumon adulte aux différents stades, généralement supérieure à celle du jeune Saumon, malgré un pouvoir de liaison parfois analogue ou même inférieur, trouve son origine dans la période de vie marine, précédant la migration anadrome, pendant laquelle le milieu et la nourriture sont riches en iode. Lorsque l'apport d'iode alimentaire et la teneur en iodure du milieu sont analogues, il apparaît donc que l'iodurophorine détermine le niveau de l'iodurémie totale.

B. INFLUENCE DE L'IODUROPHORINE SUR LA DISTRIBUTION DE L'IODURE

La liaison iodurophorine-iodure représentant un équilibre reversible, il est évident que la distribution de I^- dans les tissus dépendra de la présence éventuelle de sites de liaison intracellulaires. Il y a lieu, à cet égard, de distinguer deux groupes de tissus suivant qu'ils concentrent (thyroïde, ovaire) ou non l'iodure. Aucun système de liaison de l'ion I^- n'a pu être mis en évidence par dialyse d'équilibre d'homogénats de muscle de Brochet ($R = I$). Il en résulte que la répartition de I^- dans les tissus ne concentrant pas l'iodure, et son espace de distribution ou espace iodure, doivent être fonction de l'iodure libre circulant, donc différer entre les espèces possédant ou non l'iodurophorine, et, pour les premières, varier en fonction, de l'importance de la liaison. Pour les tissus concentrant l'iodure, il y aura compétition entre les sites de liaison cellulaires et extracellulaires; par suite la fixation d'iodure dans le tissu sera affectée par l'iodurophorine.

I. Tissus ne concentrant pas l'ion I^-

a) Répartition tissulaire de I^-; Celle-ci a été étudiée chez le Saumon, la Truite arc-en-ciel, la Carpe et l'Anguille à un ou plusieurs temps (6 à 72 heures) après injection de ^{131}I sans entraîneur. Elle est exprimée par le rapport T/M(^{131}I p.g tissu/^{131}I p.g. plasma). Le T/M n'évoluant pas sensiblement en fonction du temps, ce qui traduit un équilibre rapide, les valeurs obtenues aux divers temps ont été réunies.

Pour tous les tissus, le T/M est plus faible chez la Truite arc-en-ciel, et plus encore chez le Saumon de montée dont le pouvoir de liaison est très élevé, que chez l'Anguille ou la Carpe (tableau 38) [1]. La pénétration de I^- dans le muscle a été spécialement étudiée chez le Saumon au cours du

1. Le T/M = 2 pour le rein caudal de la Carpe résulte de la présence déjà signalée par Lysak (1964), de follicules thyroïdiens hétérotopiques dans le rein de cette espèce.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 38

Répartition de l'iodure dans les tissus de Téléostéens d'eau douce (exprimée par le T/M = ^{131}I/g tissu/^{131}I/g plasma)

Espèce	Saumon (montée)	Truite arc-en-ciel	Carpe	Anguille
Temps après ^{131}I	6 à 72 h	24 h	24 à 72 h	24 à 72 h
Tissus				
Muscle	0,041	0,056	0,104	0,088
Branchie	0,09	—	0,34	0,42
Foie	0,12	0,25	0,50	0,33
Estomac	—	0,20	—	0,84
Intestin moyen	0,16	0,18	0,49	0,93
Rein caudal	0,18	0,28	2,00	0,45
Peau	0,12	0,37	0,70	—
Vessie natatoire	0,20	—	1,49	0,71

cycle migratoire. Elle varie en raison inverse du pouvoir de liaison. Ainsi, le T/M muscle est de 0,041 ± 0,006 chez 6 Saumons de montée et de 0,063 ± 0,017 chez 5 Saumons de frayères. De même, chez le jeune Saumon, le T/M (muscle/sang) augmente du *parr* de printemps (5,48 ± 0,35) au *parr smoltifié* (6,13 ± 0,46) et diminue considérablement (3,56 ± 0,13), et très significativement ($P < 0,001$), chez le *smolt* en migration.

b) *Espace iodure :* Ce paramètre mesuré comme précédemment indiqué (1re partie, chapitre 1) est exprimé en p. 100 du poids corporel afin de faciliter les comparaisons (tableau 39). Chez les Téléostéens ne possèdant pas l'iodurophorine, Anguille ou Carpe, l'espace iodure, voisin de 40 p. 100, est très nettement supérieur à celui des Salmonidés et du même ordre de grandeur que chez l'Homme (GAFFNEY et *al.*, 1962). Il est également supérieur au volume des liquides extracellulaires lequel est en moyenne de 14 p. 100 du poids corporel chez les Téléostéens d'eau douce (THORSON, 1961).

TABLEAU 39

Espace iodure chez divers Téléostéens

Espèce et stade	Espace iodure (en p. 100 du poids du corps)
Truite arc-en-ciel	19,8
— —	12,8
Truite commune (*Salmo fario*)	16,7
Saumon	
Parr de printemps	26,4
Parr smoltifié	29,2
Smolt	16,6
Montée	7,1
Frayères	15,9
Carpe	39,2
Anguille	40

Chez les Salmonidés, l'espace iodure est voisin du volume extracellulaire dans le cas de la Truite. Chez le Saumon, il varie suivant le stade considéré et est d'autant plus important que le pouvoir de liaison est faible. Supérieur au volume extracellulaire chez le *parr*, il augmente chez le *parr smolt* et diminue considérablement chez le *smolt*. Chez le Saumon adulte de montée, dont le pouvoir de liaison est maximal, l'espace iodure est très faible, 7,1 p. 100, donc environ deux fois plus faible que l'espace extracellulaire, et il est plus que doublé chez le Saumon de frayères.

Source : MNHN, Paris

2. Tissus concentrant l'ion I^-

Pour ces tissus, la distribution de I^- sera fonction des affinités et des capacités de liaison respectives des sites de liaison cellulaires et de l'iodurophorine. La concentration des sites plasmatiques de liaison, ou des sites hypothétiques thyroïdiens, est inconnue. Il est cependant possible de mettre en évidence expérimentalement l'interférence de l'iodurophorine sur la fixation de l'iodure dans la thyroïde.

Des coupes de nodules thyroïdiens de Saumon adulte de montée (20 à 30 mg), préalablement rincées 2 fois dans du KRP, sont incubées, à 16-17 °C, en présence de ^{131}I, soit dans 1,5 ml de plasma du même poisson, soit dans 1,5 ml de KRP (pH : 7,4) additionné de NaI afin d'obtenir une concentration en I^- voisine de celle du plasma (KRP : 66 µg I^- p. 100 ml, plasma : 52 µg I^- p. 100 ml). Les deux milieux renferment du thiouracile (10^{-3} M) afin d'inhiber l'organification de l'iodure. Le temps d'incubation est limité à 2 heures, temps suffisant pour atteindre l'équilibre. Après l'incubation, les coupes sont rapidement lavées dans du KRP sans ^{131}I, séchées sur papier filtre et pesées.

Le T/M (^{131}I), égal à 3,3 dans le KRP, n'est plus que de 0,86 dans le plasma, soit seulement légèrement supérieur au T/M correspondant à l'iodure pénétrant par diffusion (0,75 environ pour la thyroïde de Mammifère selon Wolff et Maurey, 1961).

En accord avec ces résultats, il est intéressant de signaler que la constante apparente d'association déterminée, selon Wolff et Maurey (1961), sur des coupes de nodules thyroïdiens de Saumon, ou sur des ovocytes de Truite arc-en-ciel, est respectivement égale à $7{,}8.10^4$ M et 10.10^4 M, soit dans le cas du Saumon environ 7 fois moindre que la constante apparente d'association de l'iodurophorine mesurée sur les mêmes poissons et à la même température (16-17 °C).

C. INFLUENCE DE L'IODUROPHORINE SUR L'ABSORPTION DES IODURES (Leloup, 1967 *b*)

1. Protocole expérimental

Quatre lots de Truites, pesant de 40 à 68 g, à jeun depuis 12 jours, sont mis chacun dans 25 litres d'eau à 15° C. Après 48 heures d'adaptation et renouvellement de l'eau, de la thiourée, du thiocyanate de potassium (SCN^-) ou du perchlorate de sodium (ClO_4^-) sont dissous dans l'eau de trois aquariums, aux concentrations respectives de 1, 1 et 0,6 g p. litre. Ces antithyroïdiens sont choisis de façon à pouvoir évaluer les rôles respectifs de la branchie et de l'iodurophorine dans l'absorption des iodures. Aussitôt après la dissolution des antithyroïdiens, 100 µC de ^{131}I sans entraîneur sont ajoutés à l'eau des quatre aquariums. Les Truites sont sacrifiées 24 heures plus tard et les radioactivités en ^{131}I du milieu extérieur, de la branchie et du sang mesurées.

2. Résultats (tableau 40)

ClO_4^- ralentit de façon importante l'absorption des iodures (S/M = 0,63 au lieu de 1,05 chez les témoins). Ce ralentissement ne résulte pas d'une inhibition du mécanisme branchial d'absorption puisque, comme chez l'Anguille (*cf.* 1re partie, chapitre 3), le B/M est significativement plus élevé que chez les témoins; il découle d'un blocage du transfert branchie-sang qui s'exprime dans l'augmentation considérable du B/S (0,94 au lieu de 0,39).

Tableau 40

Influence de divers antithyroïdiens sur l'absorption d'iodure (^{131}I) chez la Truite arc-en-ciel

Traitement	B/M	B/S	S/M
Témoins (8)	0,41 ± 0,037	0,39 ± 0,014	1,05 ± 0,11
Thiourée (8)	0,20 ± 0,006****	0,33 ± 0,013***	0,62 ± 0,029***
Perchlorate (8)	0,57 ± 0,045**	0,94 ± 0,049****	0,63 ± 0,078***
Thiocyanate (4)	0,14 ± 0,019****	0,70 ± 0,009****	0,21 ± 0,019****

Source : MNHN, Paris

L'inhibition de l'entrée des iodures par la thiourée est du même ordre de grandeur qu'avec ClO_4^- (S/M pratiquement identique) mais elle intervient, comme nous l'avons signalé précédemment (1re partie, chapitre 3), au niveau du mécanisme branchial. En effet, le B/M est deux fois plus faible que chez les témoins alors que le B/S n'est pas augmenté.

Enfin, l'effet du thiocyanate est beaucoup plus important que celui des deux autres antithyroïdiens. Le S/M n'est plus que de 0,21, soit 3 fois plus faible qu'en présence de ClO_4^- ou de thiourée. Cette action plus forte résulte du fait que SCN^- inhibe à la fois le mécanisme branchial (diminution des deux tiers du B/M) et le transfert branchie-sang (B/S doublé) par suppression de la liaison I^--iodurophorine.

D. INFLUENCE DE L'IODUROPHORINE SUR L'EXCRÉTION DES IODURES

1. Saumon

L'excrétion quotidienne de ^{127}I a été calculée chez le Saumon adulte en eau douce. Elle est égale au produit de l'iodurémie totale (en µg I^- p. ml) par la *clearance* totale (rénale et branchiale) de l'iodure exprimée en ml de plasma par 24 heures. La *clearance* est égale au produit du volume de distribution de l'iodure par la constante d'excrétion de I^-, mesurée (après injection de ^{131}I) selon BROWNELL (1951), à partir de la courbe d'épuration plasmatique et de la fixation thyroïdienne théorique maximale de ^{131}I.

L'excrétion d'iodure est, en moyenne, respectivement de 74, 19,8 et 16,35 µg d'iodure par jour chez le Saumon de montée, frayant et *mended*, soit des rapports d'excrétion montée/frayères = 3,73 et montée/*mended* = 4,25. La valeur de ces rapports est très voisine de celle des rapports de l'iodurémie libre (montée/frayères = 3,26, montée/*mended* = 4,18) et en revanche nettement différente de celle des rapports de l'iodurémie totale (montée/frayères = 5,35, montée/*mended* = 9,59). La similitude des rapports d'excrétion et d'iodurémie libre suggère que l'excrétion d'iodure est limitée à la fraction libre. Ce fait a été confirmé expérimentalement chez la Truite arc-en-ciel.

2. Truite (LELOUP, 1967*b*) (tableau 41)

L'expérimentation est réalisée sur les Truites utilisées pour l'étude de l'influence de l'iodurophorine sur l'absorption des iodures (ci-dessus, paragraphe C), qui reçoivent, au moment de l'addition des antithyroïdiens et du ^{131}I à l'eau, une injection de 10 µC de ^{125}I sans entraîneur dans la cavité générale. Les radioactivités en ^{125}I du sang, de la branchie et du milieu extérieur sont mesurées.

TABLEAU 41

Influence de divers antithyroïdiens sur l'excrétion d'iodure (^{125}I) chez la Truite arc-en-ciel

Traitement	p.100 dose ^{125}I/g.sang pour 100 g. corps	B/S	Excretion (p.100 dose)
Temoins (8)	3.14 ± 0.22	0,26 ± 0,011	33,5
Thiouree (8)	4.11 ± 0.28**	0,27 ± 0,015	32,2
Perchlorate (8)	1,02 ± 0.12****	0,57 ± 0,042****	67,7
Thiocyanate (4)	1.48 ± 0.17****	0,53 ± 0,037****	61,0

Lorsque la liaison I^--iodurophorine est inhibée (SCN^- et ClO_4^-), le ^{125}I disparaît très rapidement du sang. La radioactivité du sang est, en effet, 24 heures après l'injection, 3 à 4 fois moindre chez les Poissons traités. Cette fuite de l'iodure traduit bien une excrétion accélérée comme l'indiquent le doublement du B/S (^{125}I) et de la radioactivité du milieu extérieur. Une augmentation considérable de l'excrétion de ^{131}I, chez la Truite arc-en-ciel ayant reçu 24 heures auparavant une

Source : MNHN, Paris

injection de thiocyanate, a également été rapportée par HUNN et FROMM (1964). Le calcul du B/S, à partir des données de ces auteurs, montre, en accord avec nos résultats, que ce rapport est approximativement doublé (0,41 au lieu de 0,20) chez les poissons traités.

Chez les Truites traitées par la thiourée, le B/S (^{125}I) et le pourcentage de ^{125}I excrété ne sont pas sensiblement modifiés. La radioactivité du sang est par contre significativement plus élevée que chez les témoins. Cette différence s'explique vraisemblablement par le fait que chez les poissons traités par la thiourée, ^{125}I fixé dans la thyroïde est très faible par suite du blocage de l'iodation des restes tyrosine de la thyroglobuline.

E. DISCUSSION

Les différences importantes dans le T/M (I^-), des tissus ou le volume de distribution de l'iodure, selon que l'espèce considérée possède ou non l'iodurophorine, indiquent que celle-ci limite la pénétration de I^- dans les espaces interstitiels et dans le compartiment intracellulaire. Les variations en sens inverse du pouvoir de liaison et du T/M (I^-), du muscle ou de l'espace iodure, chez une même espèce, confirment ce fait et montrent, en outre, que ces deux derniers paramètres, notamment le T/M (I^-) du muscle, représentent un bon index du pouvoir de liaison de l'iodurophorine.

Les expériences d'inhibition de la liaison par les ions ClO_4^- ou SCN^- démontrent que l'iodurophorine intervient à la fois dans l'absorption des iodures du milieu extérieur qu'elle accélère, et dans l'excrétion de ceux-ci, qu'elle limite à la faible fraction d'iodure libre, comme le confirme la proportionnalité existant chez le Saumon adulte entre l'iodurie et l'iodurémie libre. Cette protéine représente donc un mécanisme d'économie des iodures.

Le rôle physiologique de l'iodurophorine étant défini, la signification physiologique de la présence de cette protéine, chez certaines espèces de Téléostéens seulement, reste à préciser.

La possession de l'iodurophorine peut présenter un certain intérêt physiologique chez les Téléostéens migrateurs potamotoques, tels le Saumon, pendant la longue période de jeûne de la migration de reproduction, en assurant une réserve d'iodure utilisable pour la biosynthèse des hormones thyroïdiennes et, chez la ♀, pour l'accumulation de cet oligoélément dans les ovocytes en maturation. Cependant, la nécessité d'une réserve d'iodure n'apparaît pas clairement chez le jeune Saumon ou chez les Clupéiformes d'eau douce qui s'alimentent normalement. En outre, la mesure du pool d'iodure extrathyroïdien, (égal au produit du volume de distribution de I^- par l'iodurémie totale) que nous avons effectuée chez divers Téléostéens marins ou d'eau douce, possédant ou non l'iodurophorine (tableau 42), ne met en évidence aucune relation nette entre l'importance de ce pool et l'iodurophorine.

TABLEAU 42

Pool d'iodure extrathyroïdien chez divers Téléostéens

Espèce	Milieu	Pool d'iodure (µg I/100 g de poids du corps)
Muge	Eau de mer	10,72
Congre	Eau de mer	5,6
Rascasse	Eau de mer	8,96
Périophthalme	Eau douce	11,3
Anguille	Eau douce	5,6
Truite arc-en-ciel		
1re série	Eau douce	2,12
2e série	Eau douce	3,19
Saumon		
Montée	Eau douce	4,30
Truite commune		
(Salmo fario)	Eau douce	0,25
Carpe	Eau douce	0,91

Source : MNHN, Paris

En fait, l'influence de l'iodurophorine sur l'excrétion des iodures pouvait suggérer que la présence de cette protéine chez certaines espèces était en relation avec des modalités particulières d'excrétion de cet ion. Nous avons donc mesuré, chez divers Téléostéens, la constante d'excrétion totale (branchiale + rénale) qui exprime la fraction du pool d'iodure extrathyroïdien excrétée quotidiennement (tableau 43). La constante d'excrétion varie avec la température, mais pour des températures analogues, elle est du même ordre de grandeur chez la Truite, le Saumon de montée et la Carpe, et plus faible chez l'Anguille. Cependant, puisque chez la Truite ou le Saumon, seul, l'iodure libre est susceptible d'être excrété, la constante d'excrétion doit être rapportée, non au pool d'iodure total comme dans le cas de l'Anguille ou de la Carpe, mais au pool d'iodure libre.

TABLEAU 43

Excrétion d'iodure chez divers Téléostéens d'eau douce

Espèce	Température (°C)	Constante d'excrétion (K_e) (p. 100/j du pool iodure)
Saumon		
Montée	10-14°	34,5
Mended	12-14°	80,4
Truite arc-en-ciel		
150-185 g	17°	38,9
10-25 g	10°	25,2
	20°	67,4
Carpe	16°	41,5
Anguille	6° 5	5,8
	25°	24,7

Un tel calcul effectué chez le Saumon de montée, sur la base d'un pool d'iodure libre représentant 7,9 p. 100 du pool total (d'après les mesures *in vitro*, sur le plasma, à 16-17°), donne une constante d'excrétion de 435 p. 100, soit plus de 10 fois supérieure à celle de la Carpe, et plus encore à celle de l'Anguille. Remarquons que, chez le *mended*, dont le pourcentage d'iodure libre est environ le double de celui du Saumon de montée (*cf.* paragraphe I, A), la constante d'excrétion (rapportée au pool total) est également approximativement doublée (tableau 43). Il apparaît donc que, sans l'iodurophorine, l'excrétion d'iodure atteindrait chez le Saumon ou la Truite, des niveaux tels qu'il en résulterait inéluctablement un épuisement progressif de l'iode corporel. Cette fuite de l'iodure libre ne peut que traduire une différence dans les processus d'excrétion rénale ou (et) branchiale entre les Téléostéens possédant ou non l'iodurophorine; l'excrétion rénale de ^{131}I représentant chez la Truite arc-en-ciel environ 80 p. 100 de l'excrétion totale (HUNN et FROMM, 1964), il est vraisemblable que cette différence se situe au niveau rénal.

HUNN et FROMM (1964) ont mesuré chez la Truite, après injection de ^{131}I, le rapport de concentration en ^{131}I urine/plasma. De la valeur de ce rapport (0,08), ces auteurs déduisent que l'iodure du filtrat glomérulaire est presque entièrement réabsorbé. En réalité, comme pour la constante d'excrétion, ce rapport devrait être établi, non à partir du ^{131}I total mais du ^{131}I libre du plasma. Le pourcentage d'iodure libre, chez la Truite, à 12-14° (température de l'expérience de HUNN et FROMM), peut être estimé d'après la similitude du H/P et du rapport de dialyse chez la Truite arc-en-ciel (tableau 30) et le Saumon de frayères (tableau 37) à environ 7 à 10 p. 100. Il en découle que le rapport ^{131}I urine/^{131}I libre plasma est très voisin ou égal à l'unité, donc que la réabsorption tubulaire nette de I^-, chez la Truite, est pratiquement nulle. Ainsi, l'iodurophorine permettrait de pallier l'absence de réabsorption nette de I^- au niveau rénal.

Il est à remarquer que les Clupéiformes sont les plus anciennement apparus des Téléostéens actuels. L'iodurophorine représenterait donc un mécanisme primitif de rétention de l'iodure. Chez les Téléostéens plus récents, une réabsorption tubulaire importante de l'iodure, réduisant considérablement la perte rénale de cet ion, aurait rendu sans objet l'iodurophorine. Cette évolution expliquerait que, chez le Flet, plus de 80 p. 100 de I^- soit excrété par voie extrarénale (HICKMAN,

Source : MNHN, Paris

1959), situation inverse de celle observée chez la Truite. La présence de l'iodurophorine chez les Mugiliformes, qui présentent, comme nous l'avons signalé précédemment, à côté de caractères de haute spécialisation, des caractères primitifs de Clupéiformes (Brochet), pourrait indiquer que ces deux ordres de Téléostéens ont une origine phylétique commune. Enfin, il est possible que la faible liaison de I^- à l'albumine humaine représente un caractère vestigial de la liaison I^--iodurophorine puisque les deux protéines possèdent certaines caractéristiques voisines.

En dehors de son rôle dans la rétention de I^-, il n'est pas exclu que l'iodurophorine supplée, chez les Clupéiformes, un mécanisme branchial d'absorption d'iodure moins efficient que chez les espèces plus récentes. En effet, si l'absorption d'iodure est du même ordre de grandeur chez la Truite, l'Anguille ou la Carpe (tableau 4), les expériences d'inhibition de la liaison I^--iodurophorine par ClO_4^-, mettent en évidence une diminution de l'iodure absorbé supérieure à 40 p. 100 (tableau 40). Sans l'iodurophorine, l'absorption d'iodure serait donc très nettement plus faible chez la Truite que chez la Carpe ou l'Anguille alors que les besoins en I^- pour la synthèse hormonale, sont plus importants chez le Salmonidé (Leloup et Fontaine, 1960).

L'influence de l'iodurophorine sur la fixation thyroïdienne de l'iodure est intéressante à considérer. L'action inhibitrice d'un excès d'iodure sur l'iodation de la thyroglobuline, la synthèse d'hormone thyroïdienne (Wolff et Chaikoff, 1948) et la sécrétion d'hormone (Yamada et *al.*, 1963) est bien connue chez les Mammifères. Cette inhibition persiste chez le Rat, aussi longtemps que l'iodurémie est supérieure à 20-35 µg p. 100 ml (Wolff et Chaikoff, 1948); la glande devient ensuite réfractaire à l'inhibition, probablement parce qu'elle ne concentre plus assez d'iodure (Wolff, 1964). Toutefois, d'assez nombreux cas d'hypothyroïdie et de goitres consécutifs à l'absorption continue de quantités importantes d'iodure ont été rapportés en clinique (Wolff, 1964; Frey, 1964); chez ces patients, la majeure partie de l'iode fixé par la thyroïde reste sous forme d'iodure puisqu'il peut être déchargé par SCN^- ou ClO_4^- (Paris et *al.*, 1960). En outre, un régime riche en iode détermine la sécrétion dans le milieu intérieur de quantités importantes d'iode non hormonal thyroïdien (Simon, 1964; Koutras et *al.*, 1964; Frey, 1964; Jost et Vigouroux, 1965). En limitant, à de faibles concentrations, l'iodure disponible pour la thyroïde, l'iodurophorine peut permettre un fonctionnement normal de la glande malgré des iodurémies considérables.

Enfin, l'augmentation de la fraction d'iodure libre du plasma en fonction de la température du milieu peut présenter un intérêt physiologique en assurant à la thyroïde l'apport d'iodure plus important impliqué par la plus forte activité glandulaire à température élevée.

III. RÉGULATION DE L'IODUROPHORINE

La discussion des variations du pouvoir de liaison chez le Saumon nous a conduit, sans exclure d'autres mécanismes, à envisager un contrôle du taux de l'iodurophorine par les hormones thyroïdiennes (stimulation) et l'hormone somatotrope (dépression). L'éventualité de ce contrôle a été précisée en évaluant le pouvoir de liaison après des modifications expérimentales de l'activité thyroïdienne ou somatotrope chez la Truite arc-en-ciel.

A. CONTROLE THYROÏDIEN

1. Stimulation thyroïdienne

Elle a été réalisée soit par voie endogène, soit par voie exogène, le pouvoir de liaison étant évalué par le rapport de concentration en ^{131}I : muscle/sang ou plasma, dont nous avons montré précédemment qu'il variait en raison inverse du rapport de dialyse, donc du niveau de l'iodurophorine.

a) Endogène. Celle-ci a été obtenue en soumettant des Truites à la nage à contre-courant dans un torrent artificiel à raison de 11 heures par jour pendant 11 à 18 jours. Nous avons montré (Fontaine et Leloup, 1959) que cette activité motrice détermine un hyperfonctionnement thyroïdien s'exprimant par un doublement de la sécrétion hormonale (Leloup et Fontaine, 1960). Le T/M (^{131}I) (muscle/plasma), égal à $0{,}0630 \pm 0{,}0053$ chez les témoins maintenus en eau calme, est significativement diminué, $0{,}041 \pm 0{,}0023$ ($P < 0{,}01$) chez les Truites dans le torrent;

Source : MNHN, Paris

corrélativement, l'iodurémie s'élève de 26,6 µg p. 100 ml chez les témoins à 37,7 µg chez les poissons nageant activement (FONTAINE et LELOUP, 1959) apportant une nouvelle preuve de la relation entre l'iodurémie et le pouvoir de liaison.

b) EXOGÈNE. — Des Truites (température de l'eau : 14°) reçoivent, pendant 3 jours, une injection quotidienne de 0,03 unités USP de TSH (Organon) et 50 µC de ^{131}I sans entraîneur, juste après la dernière injection de TSH. Les témoins reçoivent des injections de solution physiologique. Les poissons de chaque lot sont sacrifiés, par groupes de trois, 1, 3 ou 6 jours après l'injection de ^{131}I.

Le T/M($^{131}I^-$) (muscle/sang) des témoins ne varie pas significativement en fonction du temps; il est égal à 0,0795 $\pm$ 0,0029. La TSH détermine, dès 24 heures après la dernière injection de TSH, une diminution nette du T/M (donc une augmentation du pouvoir de liaison), laquelle est maximale et très significative ($P < 0,001$) 2 jours plus tard (fig. 26). 6 jours après la fin du traitement hormonal, le T/M est revenu à une valeur supranormale.

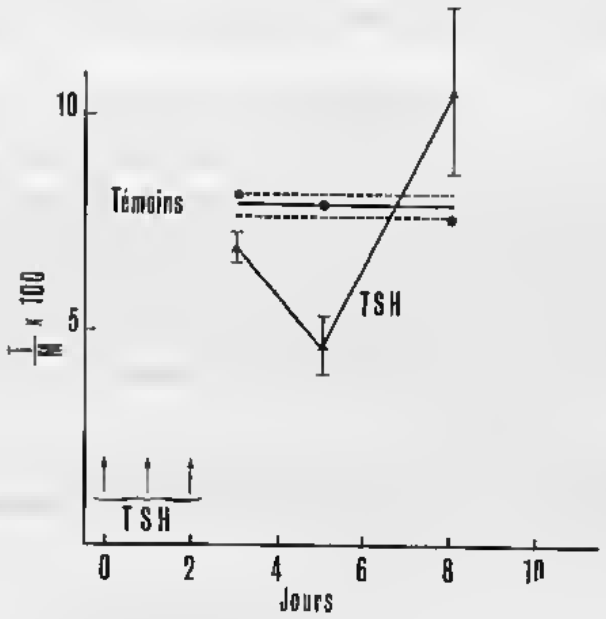


FIG. 26. — Influence de l'hormone thyréotrope sur le rapport de concentration muscle/sang en ^{131}I chez la Truite arc-en-ciel.

Lignes verticales : erreur type des poissons traités.
Lignes horizontales : trait plein, valeur moyenne des témoins; traits interrompus : erreur type des témoins.

2. Inhibition thyroïdienne et compensation par T_4

a) PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL : 26 Truites (poids moyen : 60 g) sont réparties dans trois aquariums contenant 60 litres d'eau à 15 $\pm$ 1 °C. De la thiourée (antithyroïdien choisi parce qu'il n'affecte pas la liaison iodurophorine-I^-) est dissoute dans l'eau de deux aquariums, à la concentration initiale de 0,7 g par litre, qui est ensuite portée à 0,9 g, puis à 1 g par litre après 12 jours de traitement. Les bains sont renouvelés tous les 3 jours. 10 jours après le début de l'expérience, les Truites de l'un des lots traités reçoivent pendant 7 jours une injection quotidienne de 15 µg de dl-thyroxine (solution sodique). Les poissons de l'autre lot traité ainsi que ceux du lot témoin reçoivent un même nombre d'injections du solvant de T_4. Les Truites sont nourries tous les 2 jours avec de la viande de bœuf, la nourriture étant interrompue 2 jours avant le sacrifice. Après la dernière injection, 200 µC de ^{131}I sans entraîneur sont ajoutés à l'eau de chaque aquarium et les poissons sacrifiés 24 heures plus tard. Les rapports B/M, B/S et S/M (corrigés pour 100 g de poids corporel) sont déterminés.

Dans chaque lot, les plasmas de 2 ou 3 poissons sont réunis. Ces mélanges sont dilués de moitié avec du NaCl à 8 p. 1 000 et 1,3 ml de chacun d'eux est dialysé à 4° dans un même bécher, contre 1 litre de NaCl à 8 p. 1 000 renouvelé plusieurs fois, jusqu'à ce que la radioactivité du dialysat soit pratiquement nulle. Ainsi, tout l'iodure stable peut être considéré éliminé de chaque plasma et les variations éventuelles de teneur en $^{127}I^-$ annulées. Les sacs de cellophane sont ensuite mis en dialyse d'équilibre (4 °C) contre 6 ml de KRP additionné de ^{131}I sans entraîneur. Le rapport de dialyse (R) est mesuré ainsi que la teneur en protéines de chaque mélange de plasma.

b) RÉSULTATS (tableau 44) : Le traitement prolongé (18 jours) par la thiourée diminue significativement R ainsi que la protéinémie par rapport aux témoins. Cette action ne résulte pas d'un effet toxique de l'antithyroïdien, mais bien de la mise au repos fonctionnel de la thyroïde, car l'administration de T_4 rétablit ces deux paramètres à leur valeur normale, les différences entre le lot thiourée et le lot thiourée + T_4 étant significatives.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 44

Influence de divers traitements sur l'absorption d'iodure (S/M corrigé pour 100 g de poids corporel), l'iodurophorinémie (rapport de dialyse) et la protéinémie chez la Truite arc-en-ciel

Traitement	S/M	Rapport de dialyse	Protéines (g p. 0)
Iodure (9)	0,32 ± 0,053****	9,12 ± 0,84	55,54 ± 2,92
Thiourée (7)	** 0,82 ± 0,087****	** 6,86 ± 0,63*	* 42,12 ± 2,38*
Thiourée + T_4 (9)	** 1,17 ± 0,10***	** 9,40 ± 0,30	* 52,62 ± 3,26
Témoin (10)	1,77 ± 0,13	9,61 ± 0,63	51,90 ± 2,66
GH (6)	1,70 ± 0,167	5,01 ± 0,56***	39,72 ± 2,82*

Ces fluctuations de la teneur en iodurophorine en fonction du taux de T_4 circulante retentissent sur l'absorption de l'iodure du milieu extérieur. En effet, le S/M, nettement plus faible dans les lots traités par la thiourée que dans le lot témoin ($P < 0,01$), par suite de l'inhibition du transport branchial par ce composé, est cependant significativement plus élevé dans le groupe thiourée + T_4 (1,17 ± 0,10) que dans le groupe thiourée (0,82 ± 0,087) ($P \# 0,02$). Cette différence ne résulte pas d'une stimulation du transport branchial par T_4 car le B/M dans les deux lots traités, très inférieur à celui des témoins, est pratiquement identique, thiourée : 0,41 ± 0,027; thiourée + T_4 : 0,44 ± 0,023. En revanche, le B/S est plus faible dans le lot recevant T_4 (thiourée : 0,34 ± 0,021, thiourée + T_4 : 0,28 ± 0,011 $P < 0,02$), ce qui traduit une accélération du transfert branchie-sang de I^-, laquelle ne peut être attribuée qu'à la plus forte teneur en iodurophorine dans ce lot et est une nouvelle preuve du rôle de cette protéine dans l'absorption d'iodure.

La thiourée permet ainsi de dissocier l'action de T_4 sur les deux mécanismes assurant, chez la Truite, l'absorption d'iodure : mécanisme branchial et iodurophorine.

B. CONTROLE SOMATOTROPE

1. Protocole expérimental

L'expérimentation a été réalisée sur des Truites appartenant au même groupe que celles utilisées dans l'expérience précédente et simultanément à celle-ci. Les témoins sont communs aux deux expériences. Les poissons traités reçoivent pendant 7 jours une injection quotidienne de GH. Deux préparations ont été utilisées : une préparation NIH-GH : B6 (fournie par Endocrinology Study Section, National Institute of Health, Bethesda)[1], dont le titre est de 1 unité USP par mg, et une préperation Choay (Lot S-404B) titrant 10 unités Evans par mg, soit approximativement 0,5 unité USP par mg. Les doses quotidiennes choisies sont de 125 µg du produit NIH ou 325 µg du produit Choay. Les poissons traités et témoins reçoivent une injection de ^{125}I sans entraîneur (5 µC) avant l'addition du ^{131}I à l'eau des aquariums.

2. Résultats (tableau 44)

Il n'y a pas de différence nette dans l'effet des 2 préparations somatotropes sur les divers paramètres étudiés, de sorte que les valeurs des 2 groupes ont été réunies. Le traitement par GH diminue considérablement la teneur en iodurophorine (R = 5,01 ± 0,56, témoins : 9,61 ± 0,63, $P < 0,01$) et la protéinémie (39,72 ± 2,82, témoins : 51,90 ± 2,66, $P < 0,05$). Cette chute du taux de l'iodurophorine chez les poissons traités s'accompagne d'une augmentation de l'excrétion de ^{125}I se traduisant par une concentration sanguine de ^{125}I plus faible (GH : 1,64 ± 0,32, témoins : 2,73 ± 0,27 p. 100 dose/g sang/100 g corps, $P \# 0,02$) et un B/S (^{125}I) plus élevé (GH : 0,24 ± 0,013, témoins : 0,17 ± 0,013, $P < 0,01$). Ces résultats sont une nouvelle confirmation du rôle de l'iodurophorine dans la rétention des iodures.

1. Contaminants : LH : 0,0019 × NIH-LH-S1 Standard; TSH : 0,003 unité USP (dosée sur le poussin); FSH : < 0,008 NIH-FH5-S1; prolectine : 0,4 unité par mg; ACTH : 0,25 mU par mg. Dosée sur la Truite, la contamination en TSH est équivalente à 0,018 unité USP (Y.A. FONTAINE, 1968).

Source : MNHN, Paris

En revanche, malgré la diminution de l'iodurophorinémie, l'absorption d'iodure ne semble pas modifiée chez les Truites recevant GH, comme l'indique le S/M (^{131}I) : GH : 1,70 $\pm$ 0,17, témoins : 1,77 $\pm$ 0,13 (tableau 44). Cette contradiction n'est qu'apparente et n'infirme pas le rôle de l'iodurophorine dans l'absorption d'iodure. En effet, les préparations somatotropes sont contaminées par de faibles quantités de TSH et aux doses relativement importantes utilisées dans cette étude, elles déterminent une stimulation thyroïdienne. La mesure de la fixation thyroïdienne de ^{125}I ou de ^{131}I (après correction pour les tissus extrathyroïdiens) met clairement ce fait en évidence. Alors que la thyroïde des témoins a fixé en ^{125}I, 1,54 $\pm$ 0,18 p. 100 de la dose, celles des Truites traitées par les préparations N1H et Choay ont fixé respectivement 2,59 $\pm$ 0,61 ($P < 0,05$) et 11,46 $\pm$ 1,73 p. 100 ($P < 0,001$). De même, la radioactivité thyroïdienne en ^{131}I est respectivement 2 785 $\pm$ 301, 6 777 $\pm$ 1 857 ($P < 0,01$) et 30 399 $\pm$ 9 642 cpm ($P < 0,001$) pour les témoins, le lot GH-N1H et le lot G1l Choay. Cette hyperactivité thyroïdienne des poissons traités entraîne une stimulation du transport branchial d'iodure qui permet d'expliquer la constance de l'absorption d'iodure malgré la diminution de l'iodurophorine.

C. DISCUSSION

Sans exclure d'autres interventions hormonales, l'iodurophorinémie apparaît, d'après les données expérimentales, déterminée par les teneurs plasmatiques respectives des hormones thyroïdiennes et somatotrope agissant en sens opposé. Ainsi, l'action dépressive de doses importantes de GH se manifeste chez la Truite, malgré la stimulation thyroïdienne entraînée par la TSH contaminant les préparations utilisées. Cette balance hormonale permet d'expliquer la diminution de l'iodurophorinémie chez le *parr smolt* malgré l'activation thyroïdienne, la GH étant prépondérante. Au contraire, chez le *smolt*, bien que l'activité somatotrope soit élevée, la nouvelle et très importante stimulation thyroïdienne détermine une augmentation très nette de l'iodurophorine circulante.

Ces actions hormonales ne sont pas particulières à l'iodurophorine mais ont été démontrées pour certaines protéines plasmatiques de Mammifères : la CBG et la TBG. Ainsi, le niveau de la CBG chez le Rat est directement contrôlé par les hormones thyroïdiennes et l'action stimulante des œstrogènes s'effectue par l'intermédiaire de l'axe hypophyso-thyroïdien (Labrie et *al.*, 1966, 1967; Gala et Westphal, 1966 *a* et *b*). Au contraire, chez l'Homme, dans certains cas d'acromégalie active, avec des teneurs plasmatiques de GH anormalement élevées, l'iode hormonal circulant est faible par suite d'une diminution de la teneur en TBG (Inada et Sterling, 1967). De même, l'administration de somatotrope humaine, pendant 5 ou 15 jours, détermine, chez l'Homme, une diminution significative du PBI et de la TBG (Oliner et Ballantine, 1968). Enfin, bien que Gala et Westphal (1966 *a*) concluent que la GH est sans action sur le taux de CBG déjà réduit du Rat hypophysectomisé, il faut remarquer, d'après les données de ces auteurs, qu'une nouvelle réduction du taux de CBG apparaît chez les Rats hypophysoprives recevant 0,4 mg de GH ovine pendant 10 jours.

Les fluctuations parallèles de l'iodurophorinémie et de la protéinémie chez les Truites soumises à divers traitements (tableau 44) ($r = + 0,669$, $P < 0,01$, $dl = 13$), et déjà observées chez le Saumon au cours de son cycle migratoire, indiquent que la régulation hormonale n'est pas spécifique de l'iodurophorine mais intéresse d'autres protéines du plasma. Une conclusion analogue peut être tirée des expériences d'Oliner et Ballantine (1968) chez l'Homme : la diminution de la TBG déterminée par GH est concomitante d'une réduction significative de l'albuminémie et de la protéinémie totale.

La biosynthèse des protéines plasmatiques des Téléostéens s'effectue dans le foie, comme chez les Mammifères (Kenyon, 1967). Il est donc permis d'inférer que l'action hormonale intervient au niveau des hépatocytes. Une stimulation de l'incorporation des acides aminés dans les protéines du foie de Rat, par la GH ou les hormones thyroïdiennes, et dans le foie du têtard de Grenouille, par la T_3 ou la T_4, a été démontrée *in vivo* et *in vitro* sur des coupes de tissu (*cf.* Tata, 1966). Cette stimulation de la synthèse protéique cytoplasmique, qui apparaît après un certain temps de latence, est précédée par une augmentation précoce de la synthèse de l'ARN nucléaire, puis des ARN ribosomal et soluble (Tata, 1966). L'action de la T_4 sur l'iodurophorine s'effectue très vraisemblablement selon le même processus. En effet, dans l'expérience réalisée avec la TSH, l'augmentation de la liaison des iodures est encore faible quatre jours après le début de la stimulation thyroïdienne

Source : MNHN, Paris

et est maximale deux jours plus tard. Ce temps de latence, d'environ 90 heures, est du même ordre de grandeur que celui mesuré par TATA (1965) chez le têtard de Grenouille ayant reçu une injection de T_3, pour observer une élévation de 10 p. 100 de la synthèse de protéines, par exemple 105 ± 10 heures pour la sérumalbumine.

L'action dépressive de la GH sur la biosynthèse d'iodurophorine est apparemment contradictoire avec l'action stimulante de cette hormone sur l'incorporation des acides aminés dans les protéines hépatiques des Mammifères. Cependant, la GH stimule la fixation des acides aminés, non seulement dans le foie du Rat, mais également dans de nombreux tissus, muscle squelettique notamment, et détermine une chute du taux des aminoacides plasmatiques (*cf.* ENGEL et KOSTYO, 1964). Si il en est de même chez les Téléostéens, il est concevable que la séquestration d'aminoacides par la masse des tissus périphériques entraîne une diminution de la proportion des aminoacides circulants disponibles pour le foie, donc une diminution de la synthèse d'iodurophorine et des autres protéines plasmatiques, en dépit de la capacité accrue du foie de fixer les aminoacides. Une telle hypothèse a été proposée pour expliquer la diminution de la formation d'urée chez les Rats traités par la GH (ENGEL et KOSTYO, 1964).

IV. CONCLUSIONS

1. Des variations de la capacité de liaison de I^- ont été observées chez le Muge soumis à un changement de milieu, chez la Truite à différents degrés d'évolution génitale et chez le Saumon au cours du cycle migratoire. Chez ce dernier, les variations de l'iodurophorinémie sont parallèles à celles de la protéinémie.

2. L'iodurophorinémie, indépendante de la teneur en iodure du milieu extérieur, est contrôlée par les niveaux respectifs des hormones thyroïdiennes et somatotrope circulantes. La thyroxine a un effet stimulant, l'hormone somatotrope une action dépressive. Ce contrôle hormonal n'apparaît pas spécifique de l'iodurophorine mais intéresse l'ensemble des protéines plasmatiques.

3. Chez les Téléostéens possédant l'iodurophorine, le volume apparent de distribution de I^- et les rapports de concentration en I^- tissu/sang ou plasma, sont nettement plus faibles que chez les Téléostéens sans iodurophorine et varient en fonction inverse de la capacité de liaison. Le rapport en I^- muscle/sang ou plasma est un bon index de l'iodurophorinémie. La thyroïde ne semble concentrer que l'iodure libre circulant.

4. L'iodurophorine représente un mécanisme d'économie de l'iodure. Elle intervient à la fois dans l'absorption de l'iodure du milieu extérieur qu'elle accélère et dans son excrétion qu'elle limite à la faible fraction d'iodure libre. Cette protéine, présente essentiellement chez les Téléostéens les plus primitifs, permet de pallier l'absence de réabsorption nette de I^- dans le tubule rénal chez ces poissons. Ainsi, l'excrétion quotidienne de $^{127}I^-$ qui représenterait, chez le Saumon de montée, 435 p. 100 du « pool » d'iodure est ramenée à 35 p. 100 de ce « pool » par l'iodurophorine, soit à un niveau analogue à celui d'autres Téléostéens d'eau douce ne possédant pas cette protéine.

Source : MNHN, Paris

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Au cours de ce travail, réalisé essentiellement sur 4 espèces de Téléostéens en eau douce (Saumon, Truite arc-en-ciel, Carpe et Anguille) nous avons montré que l'apport d'iodure, nécessaire au fonctionnement thyroïdien harmonieux de ces poissons, provient pour une part importante de l'absorption active de cet ion à partir du milieu extérieur. Cette absorption, largement supérieure aux besoins en iode pour la biosynthèse hormonale, résulte, chez tous les Téléostéens d'eau douce, d'un transport branchial de I^- et en outre, chez certaines espèces seulement, d'une liaison de I^- avec une protéine plasmatique, laquelle représente également un facteur de rétention de cet halogène. Ces deux mécanismes sont sous contrôle endocrinien. Le cycle de l'iodure et sa régulation chez ces poissons peuvent être schématisés, d'après nos résultats, par le diagramme de la figure 27.

1. Le transport branchial se traduit par une concentration de I^- dans certaines cellules branchiales, observée *in vivo* et *in vitro*. C'est un phénomène actif, qui nécessite l'intégrité de la chaîne respiratoire et du système de phosphorylations oxydatives, l'ATP étant la source d'énergie indispensable. Au contraire la sortie branchiale d'iodure est un phénomène passif.

Ce transport se distingue à la fois du transport actif branchial d'un autre halogène Cl^- (échange Cl^-/HCO_3^-) et du transport actif thyroïdien de I^- car il n'est pas modifié par des inhibiteurs spécifiques de ces deux mécanismes. En revanche, il ressemble, à certains égards, au transport d'iodure dans diverses algues. Il implique une oxydation de I^-, au niveau de la membrane externe de la cellule branchiale, par une iodoperoxydase, de pH optimum 5,7, qui pourrait être une enzyme allostérique et agir comme transporteur. L'iode oxydé est alors réduit en I^- dans la cellule et passe ensuite dans le sang en suivant le gradient électrochimique.

Chez les Téléostéens euryhalins, tels que l'Anguille, le transport branchial est inhibé lorsque le poisson est transféré en milieu hypertonique, l'inhibition étant d'autant plus importante que le séjour en eau salée est plus long, ce qui suggère une disparition progressive de l'iodopéroxydase par répression de sa synthèse.

2. Chez certains Téléostéens la majeure partie de l'iodure plasmatique est liée à une protéine, de nature albuminique, différente de la (ou des) protéine(s) liant la thyroxine et pour laquelle nous avons proposé le nom d'iodurophorine. L'intervention de l'iodurophorine, dans l'absorption de l'iodure qu'elle accélère et dans son excrétion qu'elle limite à la faible fraction d'iodure libre, a été démontrée en inhibant la liaison I^--iodurophorine par différents anions compétitifs.

L'étude du sang de nombreuses espèces, appartenant aux classes ou ordres des Cyclostomes, Élasmobranches, Chondrostéens, Holostéens, Téléostéens et Dipneustes, montre que cette protéine ne se rencontre que chez les Téléostéens. Chez ces derniers, sa présence apparaît en relation avec la position taxinomique des espèces. L'iodurophorine n'a pu être caractérisée chez les Cypriniformes, Anguilliformes, Gadiformes et Perciformes; au contraire elle existe chez les Téléostéens les plus primitifs, les Clupéiformes, et chez les Mugiliformes qui présentent certains caractères de Clupéiformes. Chez ces poissons, l'iodurophorine permet de suppléer à un transport branchial relativement peu développé et surtout de pallier l'absence de réabsorption nette de I^- au niveau du tubule rénal. Chez les Téléostéens plus évolués, un transport branchial plus actif, peut-être par augmentation du nombre des cellules concernées, et une réabsorption rénale efficace de I^- rendraient sans objet l'iodurophorine.

3. L'activité du transport branchial d'iodure est contrôlée par le niveau des hormones thyroïdiennes circulantes. Le transport est très ralenti lorsque l'activité fonctionnelle de la thyroïde est réduite par hypophysectomie ou traitement antithyroïdien; il est normalisé par administration de thyroxine aux hypophysoprives. La 3 : 5 : 3'-triiodothyronine est plus active que la thyroxine

Source : MNHN, Paris

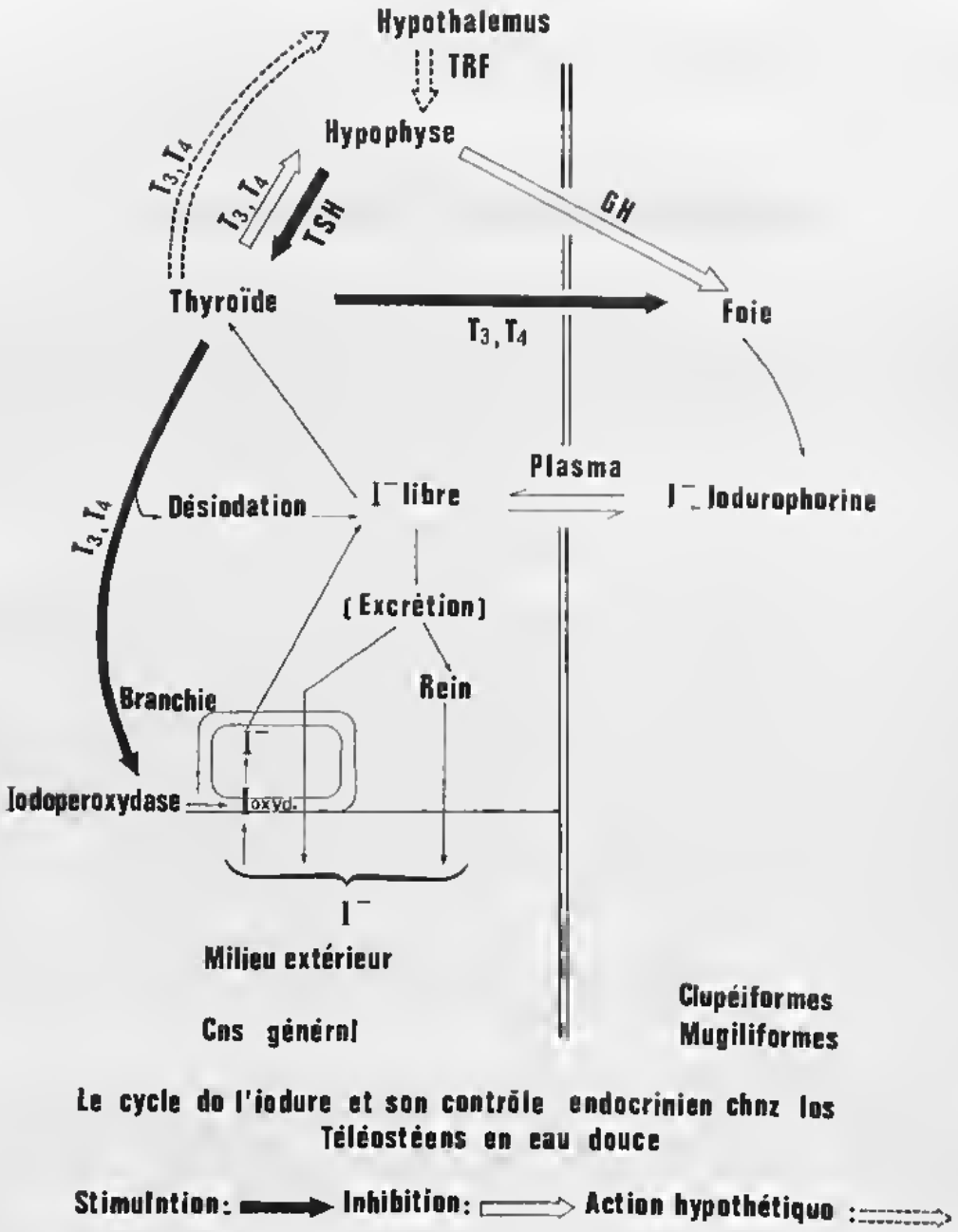


Fig. 27.

et ce contrôle thyroïdien apparaît très spécifique car la 3 : 5-diiodotyrosine, précurseur des hormones thyroïdiennes, est inactive ainsi que les nombreuses hormones non thyroïdiennes essayées. De même, les hormones thyroïdiennes élèvent le taux d'iodurophorine, l'hormone somatotrope ayant un effet inverse.

Le mode d'action des hormones thyroïdiennes apparaît cependant différent sur le transport branchial et sur l'iodurophorinémie. L'action est très rapide sur le transport branchial et n'implique ni une induction ou une accélération de la synthèse protéique, car l'actinomycine ou la puromycine sont inefficaces, ni la médiation du 3′ : 5′-AMP cyclique; certaines données expérimentales permettent d'envisager l'hypothèse d'une action des hormones comme effecteurs allostériques de l'iodopéroxydase. Au contraire, l'action hormonale sur l'iodurophorine ne se manifeste qu'après un temps de latence de plusieurs jours et implique une synthèse protéique, vraisemblablement par régulation au niveau des gènes.

Source : MNHN, Paris

On conçoit l'utilité fonctionnelle du contrôle thyroïdien de l'iodurémie. La glande adapte l'entrée d'iodure du milieu extérieur et éventuellement sa rétention à ses besoins pour la synthèse hormonale. En outre, dans les cas de carence en iodure, la thyroïde synthétise préférentiellement l'hormone la moins iodée, la 3 : 5 : 3'-triiodothyronine, laquelle plus active sur le transport branchial, tend ainsi à compenser le déficit en iodure. Cette régulation endocrinienne constitue un exemple d'adaptation physiologique aux conditions écologiques des Téléostéens en eau douce.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

BIBLIOGRAPHIE

ALEXANDER (N. M.). — Iodide peroxidase in rat thyroid and salivary glands and its inhibition hy antithyroid compounds. *J. biol. Chem.*, 1959, *234*, 1530-1533.

ALEXANDER (W. D.) et WOLFF (J.). — Cation requirements for iodide transport. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1964, *106*, 525-526.

ANDRÉ (S.). — Sur la hiochimie comparée du transport des iodures. Action de divers inhibiteurs sur la fixation des iodures par un Bryozoaire (*Bugula neritina* L.) et par deux algues marines (*Laminaria flexicaulis* et *Enteromorpha* sp.). *C.R. Soc. Biol.*, 1965, *159*, 2327-2332.

ANDREWS (P.). — Estimation of the molecular weights of proteins by Sephadex gel-filtration. *Biochem. J.*, 1964, *91*, 222-233.

ATKINSON (D. E.). — Biological feedhack control at the molecular level. *Science*, 1965, *150*, 851-857.

BAKER-COHEN (K. F.). — Renal and other heterotopic thyroid tissue in fishes. In : *Comp. Endocrinol.*, A. GORBMAN Ed., Wiley, New-York, 1959, 283-301.

BECKER (B.). — Cerebrospinal fluid iodide. *Amer. J. Physiol.*, 1961, *201*, 1149-1151.

BERG (O.), GORDON (M.) et GORBMAN (A.). — Comparative effects of thyroidal stimulants and inhihitors of normal and tumorous thyroid in Xiphophorin fishes. *Cancer Res.*, 1954, *14*, 527-533.

BERSON (S. A.), YALOW (R. S.), SORRENTINO (J.) et ROSWIT (B.). — The determination of thyroidal and renal plasma I^{131} clearance rates as a routine diagnostic test of thyroid dysfunction. *J. clin. Invest.*, 1952, *31*, 141-158.

BOATMAN (J. B.) et MOSES (C.). — Role of erythrocyte in hlood iodine transport using radioiodine I^{131}. *Amer. J. Physiol.*, 1951, *164*, 783-785.

BOIS (I.) et LARSSON (L. G.). — Effect of varying iodine supply on lahelled iodine fractions in the thyroid gland after I^{131} administration. *Acta Endocrinol.*, 1958, *28*, 262-272.

BOOTH (M.), DIXON (P. F.), GRAY (C. H.), GREENAWAY (J. M.) et HOLNESS (N. J.). — Protein binding of cortisol in health and in pregnancy. *J. Endocrinol.*, 1961, *23*, 25-35.

BOULOUARD (R.) et FONTAINE (Y. A.). — Sur l'état de la corticostérone plasmatique chez le Rat. Étude par filtration sur gels Sephadex G 100 et G 200. *C. R. Acad. Sci.*, 1963, *257*, 1379-1382.

BROWNELL (G. L.). — Analysis of techniques for the determination of thyroid function with radioiodine. *J. clin. Endocrinol.*, 1951, *11*, 1095-1105.

BROWN-GRANT (K.). — Extrathyroidal iodide concentrating mechanisms. *Physiol. Rev.*, 1961, *41*, 189-213.

BYCZKOWSKA-SMYK (N.). — Development of the respiratory surface in the gills of the rainhow trout (*Salmo irideus* GIBB.). *Acta biol. Cracoviensia*, Ser. Zool., 1961, *4*, 89-109.

CAMATINI (M.) et LANZAVECCHIA (G.). — Rilievi ultrastrutturali sulle branchie dei pesci. Nota 1. L'epitelio di rivestimento. *Rend. Accad. Lincei*, Cl, Sci. fis. mat. nat., 1966, Ser. 8, *40*, 679-685.

CARR (C. W.). — Studies on the hinding of small ions in protein solutions with the use of memhrane electrodes. 1. The binding of the chloride ion and other inorganic anions in solutions of serum alhumin. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1952, *40*, 286-294.

CEDARD (L.), FONTAINE (M.) et NOMURA (T.). — Sur la teneur en œstrogènes du sang du Saumon adulte (*Salmo salar* L.) en eau douce *C. R. Acad. Sci.*, 1961, *252*, 2656-2657.

CHARLWOOD (P. A.). — Molecular weights of rat, rahbit and guinea pig serum alhumins. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1959, *32*, 283-284.

CLEMENTS-MERLINI (M.). — Altered metaholism of I^{131} hy the endostyle and notochord of ammocoetes larvae. II. Effects of treatment with thiourea or potassium thiocyanate. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1962. *2*, 361-368.

COPELAND (D. E.). — The interrelations of the chloride excreting cell (gill) and the pseudo branch of *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull.*, 1947, *93*, 222.

Source : MNHN, Paris

Czolowska (R.). — The respiratory surface of gills of the *Alosa kessleri pontica* (Eichwald). *Acta biol. Cracoviensia*, Ser. Zool., 1965, *8*, 101-117.

Daughaday (W. H.). — The binding of corticosteroids by plasma protein in : The adrenal cortex, A. B. Eisenstein Edit., Little Brown, Boston, 1967, 385-403.

Daughaday (W. H.) et Mariz (I. K.). — Corticosteroid-binding globulin: its properties and quantitation. *Metabolism*, 1961, *10*, 936-950.

De groot (L. J.) et Davis (A. M.). — Studies on the biosynthesis of iodotyrosines: A soluble thyroidal iodide peroxidase tyrosine-iodinase system. *Endocrinology*, 1962, *70*, 492-504.

De Moor (P.), Steeno (O.) et Heyns (N.). — Possible role or significance of protein-steroid binding in plasma. *Ann. Endocrinol.*, 1968, *29*, 119-130.

De Weer (P.) et Crabbe (J.). — The role of nucleic acids in the sodium retaining action of aldosterone. *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, *155*, 280-289.

Doyle (W. L.) et Gorecki (D.). — The so-called chloride cell of the fish gill. *Physiol. Zool.*, 1961, *34*, 81-85.

Drilhon (A.), Fine (J. M.) et Doualas (F.). — Étude électrophorétique de quelques constituants sériques des poissons. *Ann. Inst. Océanogr. Monaco*, 1958, *35*, 141-158.

Engel (F. L.) et Kostyo (J. L.). — Metabolic actions of pituitary hormones. In: G. Pincus, K.V. Thimann et E. B. Astwood. *The hormones*, 1964, *5*, 69-158, Acad. Press. N.Y.

Epstein (F. H.), Katz (A. I.) et Pickford (G. E.). — Sodium —and potassium—activated adenosine triphosphatase of gills: role in adaptation of Teleosts to salt water. *Science*, 1967, *156*, 1245-1247.

Étienne (N.). — Action des ions potassium, magnésium et calcium sur la fonction thyroïdienne de la Truite arc-en-ciel (*Salmo irideus* Gairdnerii). *C. R. Soc. Biol.*, 1958, *152*, 308-312.

Evans (D. H.). — Sodium, chloride and water balance of the intertidal Teleost *Xiphister atropurpurens*. I. Regulation of plasma concentration and body water content. *J. exp. Biol.*, 1967, *47*, 513-517.

Flodin (P.). — Dextran gels and their applications in gel filtration. *Pharmacia*, Uppsala, Sweden 1962, 85 pp.

Flodin (P.) et Killander (J.). — Fractionation of human serum proteins by gel filtration. *Biochim. Biophys. Acta*, 1962, *63*, 403-410.

Fontaine (M.). — Physiologie du Saumon. *Ann. Stat. Centr. Hydrobiol. appl.*, 1948, *2*, 153-183.

Fontaine (M.). — Quelques problèmes physiologiques posés par le *Salmo salar*. Intérêt de l'étude de la smoltification, type de préparation au comportement migratoire. *Experientia*, 1960, *16*, 433-438.

Fontaine (M.). — Les mécanismes physiologiques du comportement migratoire amphibiotique catadrome des poissons Téléostéens. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 1964*a*, *15*, 959-967.

Fontaine (M.). — Corpuscules de Stannius et régulation ionique (Ca, K, Na) du milieu intérieur de l'Anguille (*Anguilla anguilla* L.). *C. R. Acad. Sci.*, 1964*b*, *259*, 875-878.

Fontaine (M.), Callamand (O.) et Vibert (R.). — La physiologie du Saumon. Deuxième partie. *Ann. Stat. Centr. Hydrobiol. appl.*, 1950, *3*, 15-26.

Fontaine (M.) et Leloup (J.). — Sur l'iodémie de deux Téléostéens migrateurs potamotoques *Salmo salar* L. et *Alosa alosa* L. au début de leur montée reproductrice. *C. R. Acad. Sci.*, 1950*a*, *230*, 775-777.

Fontaine (M.) et Leloup (J.). — L'iodémie d'un Cyclostome marin (*Petromyzon marinus* L.) au moment de sa migration reproductrice. *C. R. Acad. Sci.*, 1950*b*, *230*, 1538-1539.

Fontaine (M.) et Leloup (J.). — L'iodémie du jeune Saumon (*Salmo salar* L.) en eau douce. *C. R. Acad. Sci.*, 1950*c*, *231*, 169-171.

Fontaine (M.) et Leloup (J.). — Iodémie et thyroxinémie élevées des poissons Téléostéens migrateurs amphibiotiques. *Rés. Comm. IIe Congr. Internat. Bioch.*, Paris, 1952, p. 53.

Fontaine (M.) et Leloup (J.). — Sur l'existence de différences spécifiques de perméabilité au radioiode des hématies de divers poissons. *J. Physiol.*, Paris, 1957, *49*, 164-169.

Fontaine (M.) et Leloup (J.). — Sur l'existence d'une « liaison » de l'ion iodure avec certaines protéines du plasma de Saumon adulte (*Salmo salar* L.). *C. R. Acad. Sci.*, 1958, *247*, 767-770.

Source : MNHN, Paris

FONTAINE (M.) et LELOUP (J.). — Influence de la nage à contre-courant sur le métabolisme de l'iode et le fonctionnement thyroïdien chez la Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii* RICH). *C. R. Acad. Sci.*, 1959, *249*, 343-347.

FONTAINE (M.) et LELOUP (J.). — Le fonctionnement thyroïdien du Saumon adulte (*Salmo salar* L.) à quelques étapes de son cycle migratoire. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1962, *2*, 317-322.

FONTAINE (M.), LELOUP (J.) et OLIVEREAU (M.). — La fonction thyroïdienne du jeune Saumon, *Salmo salar* L. (*parr* et *smolt*) et son intervention possible dans la migration d'avalaison. *Arch. Sci. physiol.*, 1952, *6*, 83-104.

FONTAINE (M.) et OLIVEREAU (M.). — L'hypophyse du Saumon (*Salmo salar* L.) à diverses étapes de sa migration. *C. R. Acad. Sci.*, 1949, *228*, 772-774.

FONTAINE (Y. A.). — La spécificité zoologique des protéines hypophysaires capables de stimuler la thyroïde. *Acta Endocrinol.*, 1969, *60*, Suppl. 136, 154 pp.

FRAENKEL-CONRAT (H.), BEAN (R. S.) et LINEWEAVER (H.). — Essential groups for the interaction of ovomucoid (egg white trypsin inhibitor) and trypsin and for tryptic activity. *J. biol. Chem.*, 1949, *177*, 385-403.

FREINKEL (N.) et INGBAR (S. H.). — The relationship between metabolic activity and iodide concentrating capacity of surviving thyroid slices. *J. clin. Endocrinol. and Metab.*, 1955, *15*, 442-458.

FREY (H.). — Hypofunction of the thyroid gland due to prolonged and excessive intake of potassium iodide. *Acta Endocrinol.*, 1964, *47*, 105-120.

FRIEDEN (C.). — Glutamate dehydrogenase. V. The relation of enzyme structure to the catalytic function. *J. biol. Chem.*, 1963, *238*, 3286-3299.

FROMM (P. O.). — Some quantitative aspects of ion regulation in Teleosts. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1968, *27*, 865-869.

GAFFNEY (G. W.), GREGERMAN (R. I.), SHOCK (N. W.), CROWDER (S. E.) et FLATT (R.). — Relationships of age to the thyroidal accumulation, renal excretion and distribution of radioiodide in euthyroid man. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1962, *22*, 784-794.

GALA (R. R.) et WESTPHAL (U.). — Influence of anterior pituitary hormones on the corticosteroid binding globulin in the rat. *Endocrinology*, 1966*a*, *79*, 55-66.

GALA (R. R.) et WESTPHAL (U.). — Further studies on the corticosteroid-binding globulin in the rat: proposed endocrine control. *Endocrinology*, 1966*b*, *79*, 67-76.

GARCIA-ROMEU (F.) et MAETZ (J.). — The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a freshwater fish, Carassius auratus. I. Evidence for an independant uptake of sodium and chloride ions. *J. gen. Physiol.*, 1964, *47*, 1195-1207.

GARCIA-ROMEU (F.) et MOTAIS (R.). — Mise en évidence d'échanges Na^+/NH_4^+ chez l'Anguille d'eau douce. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1966, *17*, 1201-1204.

GETMAN (H. C.). — Adaptive changes in the chloride cells of *Anguilla rostrata*. *Biol. Bull.*, 1950, *99*, 439-445.

GOMORI (G.). — Preparation of buffers for use in enzyme studies. In : *Methods in Enzymology*, COLOWICK (S.P.) et KAPLAN (N. O.), Ed. Acad. Press, New York, 1955, *1*, 138-146.

GORNALL (A. G.), BARDAWILL (C. J.) et DAVID (M. M.). — Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. biol. Chem.*, 1949, *177*, 751-766.

GRASBECK (R.), LAMBERG (B. A.) et BJÖRKSTÉN (F.). — The formation of thyroxine metabolites by *Escherichia coli*. *Acta Endocrinol.*, 1960, *34*, 113-120.

GRASSMAN (W.) et HANNIG (K.). — Ein einfaches Verfahren zur Analyse der Serumproteine und anderer Proteingemische. *Naturwiss.*, 1950, *37*, 496-497.

GREER (M. A.), SCOTT (A. K.) et MILNE (K. A.). — Effect of thiocyanate, perchlorate and other anions on thyroidal iodine metabolism. *Endocrinology*, 1966, *79*, 237-247.

GUTKNECHT (J.). — Ion distribution and transport in the red marine alga, *Gracilaria foliifera*. *Biol. Bull.*, 1965, *129*, 495-509.

HAMRE (C.) et NICHOLS (S.). — Exophthalmia in trout fry. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, 1928, *26*, 63-65.

Source : MNHN, Paris

Hess (B.) et Brand (K.). — Wirkungsmechanismus des Schilddrüsen-hormones. *10 Symposion der deutschen Gesellschaft für Endokrinologie* in Wien (1963). Berlin Göttingen Heidelberg : Springer, 1964, p. 76.

Hickman (C. P. Jr). — The osmoregulatory role of the thyroid gland in the starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Can. J. Zool.*, 1959, *37*, 997-1060.

Hickman (C. P. Jr). — Influence of environment on the metabolism of iodine in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1962, Suppl. 1, 48-62.

Huang (C. T.) et Hickman (C. P. Jr). — Binding of inorganic iodide to the plasma proteins of Teleost fishes. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 1968, *25*, 1651-1666.

Hunn (J. B.). — Uptake, distribution and excretion of the radionuclide I^{131} by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Thèse Michigan State University*, 1963, 100 p.

Hunn (J. B.) et Fromm (P. O.). — Uptake, turn-over and excretion of I^{131} by rainbow trout *(Salmo gairdneri) Biol. Bull.*, 1964, *126*, 282-290.

Hunn (J. B.) et Reineke (E. P.). — Influence of iodine intake on iodine distribution in trout. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1964, *115*, 91-93.

Iff (H. W.) et Wilbrandt (W.). — Die Abhängigkeit der Jodakkumulation in Schilddrüsenschnitten von der ionalen Zusammensetzung des Inkubationsmediums und ihre Beeinflussung durch Herzglykoside *Biochim. Biophys. Acta*, 1963, *78*, 711-725.

Inada (M.) et Sterling (K.). — Thyroxine turnover and transport in active acromegaly. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1967, *27*, 1019-1027.

Ingbar (S. H.) et Freinkel (N.). — Concentration gradients for radioiodide in blocked thyroid gland of rats: effect of perchlorate. *Endocrinology*, 1956, *58*, 95-103.

Jacoby (G. H.) et Hickman (C. P. Jr). — A study of the circulating iodocompounds of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, by the method of isotopic equilibrium. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1966. *7*, 245-254.

Joliot (F.), Courrier (R.), Horeau (A.) et Sue (P.). — Sur la préparation d'une hormone contenant des atomes radioactifs. *C. R. Soc. Biol.*, 1944, *138*, 325-327.

Jones (J. W.). — The Salmon. *Collins* Ed., London, 1959, 192 pp.

Jost (A.) et Vigouroux (E.). — Données sur les composés iodés organiques du plasma chez le lapin adulte et chez le fœtus. *Ann. Endocrinol.*, 1965, *26*, 691-704.

Jozuka (K.). — Chloride excreting and mucus secreting cells in the gills of the japonese common eel, *Anguilla japonica*. *Annot. zool. japon.*, 1966, *39*, 202-210.

Kelly (S.). — Respiration and iodine uptake in *Ascophyllum*. *Biol. Bull.*, 1953, *104*, 138-145.

Kelsey (F. O.), Gullock (A.) et Clausen (H. J.). — Plasma protein bound iodine in the beaver and other animals. *Acta Endocrinol.*, 1960, *35*, 495-500.

Kenyon (A. J.). — The role of the liver in the maintenance of plasma proteins and amino acids in the eel, *Anguilla anguilla* L., with reference to amino acid deamination. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1967, *22*, 169-175.

Kerkof (P. R.), Tong (W.), et Chaikoff (I. L.). — I^{131} utilization by salamanders: *Taricha*, *Amphiuma* and *Necturus*. *Endocrinology*, 1963, *73*, 185-192.

Kessel (R. G.) et Beams (H. W.). — Electron microscope studies on the gill filaments of *Fundulus heteroclitus* from sea water and fresh water with special reference to the ultrastructural organization of the «chloride cells». *J. Ultrastruct. Res.*, 1962, *6*, 77-87.

Keys (A. B.) et Willmer (E. N.). — «Chloride secreting cells» in the gills of fishes with special reference to the common eel. *J. Physiol.*, London, 1932, *76*, 368-378.

Klemperer (H. G.). — The accumulation of iodide by *Fucus ceranoides*. *Biochem. J.*, 1957, *67*, 381-390.

Klotz (I. M.). — The nature of some ion-protein complexes. *Cold. Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1949, *14*, 97-112.

Klotz (I. M,) et Urquhart (J. M.). — The binding of organic ions by proteins. Comparison of native and of modified proteins. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1949, *71*, 1597-1603.

Koefoed-Johnsen (V.) et Ussing (H. H.). — Ion transport. In: Comar (C. L.) et Bronner (F.). — *Mineral metabolism*, Acad. Press. 1960, *1*, part A, 169-203.

Source : MNHN, Paris

KOUTRAS (D. A.), ALEXANDER (W. D.), HARDEN (R. M.) et WAYNE (E.). — Effect of small iodine supplements on thyroid function in normal individuals. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1964, *24*, 857-862.

KROGH (A.). — Osmotic regulation in freshwater fishes by active absorption of chloride ions. *Zeit. Vergleich. Physiol.*, 1937, *24*, 656-666.

KROGH (A.). — The active absorption of ions in some freshwater animals. *Zeit. Vergleich. Physiol.*, 1938, *25*, 335-350.

KROGH (A.). — Osmotic regulation in aquatic animals. *Cambridge University Press*, London, 1939.

LABRIE (F.), NORMAND (M.), KOCH (B.), LOISEL (R.), MARCEAU (H.), ARON (M.), DUCHASTEL (P.) et FORTIER (C.). — Antagonisme thyroxine-corticostérone dans l'ajustement de la liaison transcortine-corticostérone. *Ann. Acfas*, 1966, *32*, 33.

LABRIE (F.), PELLETIER (G.) et FORTIER (C.). — Rôle central de la thyroïde dans le contrôle hormonal de la liaison transcortine-corticostérone et de l'activité hypophyso-surrénalienne chez le Rat. *Ann. Acfas*, 1967, *33*, 79.

LACHIVER (F.). — Application de la méthode catalytique au microdosage de l'iode dans les milieux biologiques. *Ann. Pharm. Franç.*, 1956, *14*, 41-57.

LACHIVER (F.) et LELOUP (J.). — Microdosage de l'iode sanguin. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1949, *31*, 1128-1143.

LACHIVER (F.) et LELOUP (J.). — Microdosage de l'iode. In : *Techniques de Laboratoire*, LOISELEUR (J.), 2e Éd., Masson Éd., Paris, 1954, *1*, 430-437.

LACHIVER (F.) et POIVILLIERS de la QUERIÈRE (F.). — Étude du rapport ^{131}I hématies/^{131}I plasma et du rapport de conversion ^{131}I organique plasmatique/^{131}I plasmatique en vue de leur application à l'étude de la fonction thyroïdienne chez les Colombidés. *Zeit. Vergleich. Physiol.*, 1959, *42*, 6-16.

LA ROCHE (G.), JOHNSON (C. L.) et WOODALL (A. N.). — Thyroid function in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* RICH.). 1. Biochemical and histological evidence of radiothyroidectomy. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1965, *5*, 145-159.

LA ROCHE (G.), JOHNSON (C. L.), WOODALL (A. N.) et ROSENBERG (L. L.). — Iodine metabolism in adult king Salmon (*Oncorhynchus tschawytscha* WALBAUM). *Proc. 16e Internat. Congr. Zool.*, Washington, 1963, *2*, 154.

LA ROCHE (G.), WOODALL (A. N.), JOHNSON (C. L.) et HALVER (J. E.). — Thyroid function in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* RICH.). II. Effects of thyroidectomy on the development of young fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1966, *6*, 249-266.

LAUDAT (M.). — Le dosage du chlore dans le sérum sanguin et dans les liquides albumineux de l'organisme. *J. Pharm. Chim.*, 1917, 7e série, *16*, 168-171.

LELOUP (J.). — Iodémie et état sexuel chez *Torpedo marmorata* RISS. *C. R. Soc. Biol.*, 1949*a*, *143*, 214-216.

LELOUP (J.). — L'iodémie des Téléostéens marins. *C. R. Soc. Biol.*, 1949*b*, *143*, 330-332.

LELOUP (J.). — In : Discussion du rapport de D. CORDIER et P. BOULANGER. *J. Physiol.*, Paris, 1952, *44*, 632.

LELOUP (J.). — Contribution à l'étude du fonctionnement thyroïdien d'un Dipneuste : *Protopterus annectens* OWEN. *C. R. Acad. Sci.*, 1958*a*, *246*, 474-477.

LELOUP (J.). — Influence de la température sur le fonctionnement thyroïdien de l'Anguille normale. *C. R. Acad. Sci.*, 1958*b*, *247*, 2454-2456.

LELOUP (J.). — Sur la répartition des hormones thyroïdiennes (thyroxine et 3 : 5 : 3' triiodothyronine) entre les hématies et le plasma du sang de quelques poissons (Dipneuste et Téléostéens). *J. Physiol.*, Paris, 1958*c*, *50*, 368-370.

LELOUP (J.). — Variations spécifiques de la liaison de la thyroxine avec les protéines du plasma chez les poissons. *J. Physiol.*, Paris, 1961, *53*, 403-405.

LELOUP (J.). — Biochimie comparée des hormones thyroïdiennes. Colloque sur la thyroïde, Rio de Janeiro, 1961, In : C. CHAGAS et L. C. LOBO, *Colloquio sobrea tiroide*, 1964*a*, 47-80.

LELOUP (J.). — Répartition zoologique de la protéine plasmatique de liaison des iodures chez les poissons, *J. Physiol.*, Paris, 1964*b*, *56*, 593-594.

Source : MNHN, Paris

LELOUP (J.). — Caractéristiques de la liaison des iodures dans le plasma de certains Téléostéens. *J. Physiol.*, Paris, 1964*c*, *56*, 594-595.

LELOUP (J.). — Métabolisme de la thyroxine chez l'Anguille normale et hypophysectomisée en fonction de la température. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1965, *5*, 696.

LELOUP (J.). — Absorption branchiale des iodures et son contrôle endocrinien chez l'Anguille. *J. Physiol.*, Paris, 1966, *58*, 560.

LELOUP (J.). — Iodoperoxydase branchiale et absorption des iodures chez l'Anguille. Mécanisme thyroïdien de contrôle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1967*a*, *9*, 514.

LELOUP (J.). — Rôle physiologique de l'iodurophorine chez la Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii* RICH.). *C. R. Acad. Sci.*, 1967*b*, *265*, 1737-1740.

LELOUP (J.). — Mise en évidence d'un transport branchial des iodures chez les Téléostéens d'eau douce. *C. R. Soc. Biol.*, 1968, *162*, 1306-1311.

LELOUP (J.) et FONTAINE (M.). — Iodine metabolism in lower Vertebrates. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1960, *86*, 316-353.

LELOUP (J.) et LACHIVER (F.). — Influence de la teneur en iode du régime sur la biosynthèse des hormones thyroïdiennes. *C. R. Acad. Sci.*, 1955, *241*, 509-511.

LELOUP (J.) et LELOUP HATEY (J.). — Influence de l'ablation des corpuscules de Stannius sur le fonctionnement thyroïdien de l'Anguille normale et hypophysectomisée. *C. R. Soc. Biol.*, 1964, *158*, 1273-1276.

LELOUP (J.) et OLIVEREAU (M.). — Production d'exophtalmie par la thiourée chez un Téléostéen marin : *Dentex vulgaris* CUV. *C. R. Soc. Biol.*, 1950, *144*, 772-774.

LELOUP-HATEY (J.). — Modifications de l'équilibre minéral de l'Anguille (*Anguilla anguilla* L.) consécutives à l'ablation des corpuscules de Stannius. *C. R. Soc. Biol.*, 1964, *158*, 711-715.

LELOUP-HATEY (J.) et LELOUP (J.). — Corpuscules de Stannius et thyroïde chez l'Anguille (*Anguilla anguilla* L.). *J. Physiol.*, Paris, 1964, *56*, 596-597.

LEVEY (G. S.) et EPSTEIN (S. E.). — Activation of cardiac adenylcyclase by thyroid hormone. *Biochem. Biophys. Res. comm.*, 1968, *33*, 990-995.

LINDSAY (R. H.), ROMINE (C.), ZACHAREWICZ (F.), DUPREE (H. K.) et SNEED (K. E.). — Accumulation of ^{131}I by channel catfish *(Ictalurus punctatus)* ovaries *in vivo* and *in vitro*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1966, *6*, 231-238.

LISSITZKY (S.), BISMUTH (J.) et ROLLAND (M.). — Séparation des composés iodés du sérum et de la thyroïde par filtration sur gel de dextrane (Sephadex). *Clin. Chim. Acta.*, 1962, *7*, 183-189.

LYSAK (A.). — Thyroid centres in carp and in some other teleost fishes revealed by iodine I^{131}. *Acta biol. Cracoviensia*, Ser. Zool., 1964, *7*, 21-46.

MAETZ (J.). — Recherches sur la perméabilité aux électrolytes de la branchie des poissons et sa régulation endocrinienne. *Bull. Inform. Sci. Techn.*, 1964, N° *86*, 1-60.

MAETZ (J.) et CAMPANINI (G.). — Potentiels transépithéliaux de la branchie d'Anguille *in vivo* en eau douce et en eau de mer. *J. Physiol.*, Paris, 1966, *58*, 248.

MAETZ (J.) et GARCIA-ROMEU (F.). — The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a fresh water fish, *Carassius auratus*. II. Evidence for NH_4^+/Na^+ and HCO_3^-/Cl^- exchanges. *J. gen. Physiol.*, 1964, *47*, 1209-1227.

MAETZ (J.) et SKADHAUGE (E.). — Drinking rates and gill ionic turnover in relation to external salinities in the eel. *Nature*, 1968, *217*, 371-373.

MALOOF (F.) et SOODAK (M.). — The inhibition of the metabolism of thiocyanate in the thyroid of the rat. *Endocrinology*, 1959, *65*, 106-113.

MALOOF (F.) et SOODAK (M.). — Oxidation of thiocyanate, another index of thyroid function. *Endocrinology*, 1966, *78*, 1198-1204.

MAQSOOD (M.), REINEKE (E. P.) et FROMM (P. O.). — In vitro I^{131} uptake by tissues of rainbow trout. *Physiol. Zool.*, 1961, *34*, 34-38.

MARINE (D.) et LENHART (C. H.). — On the occurence of goitre (active thyroid hyperplasia) in fish. *Bull. John Hopkins Hosp.*, 1910, *21*, 95-98.

Source : MNHN, Paris

MARINE (D.) et LENHART (C. H.). — Observations and experiments on the so-called thyroid carcinoma of hrook trout *(Salvelinus fontinalis)* and its relation to ordinary goitre. *J. exper. Med.*, 1910, *12*, 311-337.

MAYRARGUE-KODJA (A.), BOUCHILLOUX (S.) et LISSITZKY (S.). — Action d'une peroxydase végétale sur divers amino acides phénoliques : tyrosine, thyronine, et certains de leurs dérivés iodés ou hydroxylés. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1958, *40*, 815-831.

MEISNER (H. M.). — The effect of propylthiouracil on the oxygen consumption and iodine metaholism of the frog, *Rana pipiens*, in winter. *Can. J. Zool.*, 1962, *40*, 643-653.

MEYER (D. K.). — Physiological adjustements in chloride balance of the goldfish. *Science*, 1948, *108*, 305-307.

MEYER (D. K.). — Sodium flux through the gills of goldfish. *Amer. J. Physiol.*, 1951, *165*, 580-587.

MILLS (1. H.). — The transport state of steroid hormones. *Mem. Soc. Endocrinol.*, 1961, *11*, 81-89.

MONOD (J.). — On the mechanism of molecular interactions in the control of cellular metabolism. *Endocrinology*, 1966, *78*, 412-425.

MONOD (J.), CHANGEUX (J. P,) et JACOB (F.). — Allosteric proteins and cellular control systems. *J. Mol. Biol.*, 1963, *6*, 306-329.

MONOD (J.) et JACOB (F.). — General conclusions; teleonomic mechanisms in cellular metabolism, growth and differentiation. *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1961, *26*, 389-401.

MONOD (J.), WYMAN (J.) et CHANGEUX (J. P.). — On the nature of allosteric transitions : a plausible model. *J. Mol. Biol.*, 1965, *12*, 88-118.

MOREL (F.) et MAETZ (J.). — Application de la méthode des indicateurs nucléaires à l'étude des prohlèmes physiologiques. In : *Génie atomique*, volume *4*, E_3, pp. 3-18, Presses Univ., Paris.

MOTAIS (R.). — Les mécanismes d'échanges ioniques branchiaux chez les Téléostéens. *Ann. Inst. Océanogr. Monaco*, 1967, *45*, 1-83.

NORRIS (D.O.). — Radiothyroidectomy in the salmonid fishes *Salmo gairdnerii* RICHARDSON and *Oncorhynchus tschawytscha* WALBAUM. *Thèse*, University of Washington, 1966.

NUNEZ (J.) et POMMIER (J.). — Iodation des protéines par voies enzymatique. 2 — Formation d'un composé intermédiaire peroxydase-halogène. *Eur. J. Biochem.*, 1968, *5*, 114-118.

OGAWA (M.). — Chloride cells in japanese common eel, *Anguilla japonica*. *Sci. Rep. Saitama Univ.*, 1962, *4*, 131-137.

OIDE (M.) et UTIDA (S.). — Changes in water and ion transport in isolated intestines of the eel during salt adaptation and migration. *Marine Biol.*, 1967, *1*, 102-106.

OLINER (L.) et BALLANTINE (J. J.). — Effect of human growth hormone on thyroidal secretion, radiothyroxine turnover and transport in man. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1968, *28*, 603-607.

OLIVEREAU (M.). — Hypophyse et glande thyroïde chez les poissons. Étude histophysiologique de quelques corrélations endocriniennes, en particulier chez *Salmo salar* L. *Ann. Inst. Océanogr. Monaco*, 1954, *29*, 95-296.

OLIVEREAU (M.). — Hyperplasie thyroïdienne et présence de follicules thyroïdiens intrarénaux chez un exemplaire de *Typhlogarra widdowsoni* TREWAVAS, poisson aveugle et cavernicole de l'Irak. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belgique*, 1959-1960, *90*, 117-125.

OWEN (C. A. Jr) et POWER (M. H.). — Distribution of iodide hetween cells and plasma as measured hy means of radioactive iodide. *J. biol. Chem.*, 1953, *200*, 111-116.

PARIS (J.), Mc CONAHEY (M.), OWEN (C. A. Jr), WOOLNER (L. B.) et BAHN (R. C.). — Iodide goiter. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1960, *20*, 57-67.

PARRY (G.). — Osmotic adaptation in fishes. *Biol. Rev.*, 1966, *41*, 392-444.

PARRY (G.) et HOLLIDAY (F. G. T.). — An experimental analysis of the function of the pseudohranch in Teleosts. *J. exper. Biol.*, 1960, *37*, 344-354.

PHILPOTT (C. W.). — Halide localization in the Teleost chloride cell and its identification hy selected area electron diffraction. *Protoplasma*, 1965, *60*, 7-23.

Source : MNHN, Paris

PHILPOTT (C. W.) et COPELAND (D. E.). — Fine structure of chloride cells from three species of *Fundulus*. *J. cell. Biol.*, 1963, *18*, 389-404.

PITNEY (W. R.) et FRASER (T. R.). — The mode of action of antithyroid drugs : results with two *in vitro* tests. *J. Endocrinol.*, 1953, *9*, 224-231.

POIVILLIERS DE LA QUERIÈRE (F.). — Étude de la teneur en iode ^{127}I de la thyroïde et du plasma chez deux espèces de Colombidés, le Pigeon ramier (*Columba palumbus*) et le Pigeon domestique (*Columba livia*, var. domestica). *C. R. Acad. Sci.*, 1960, *250*, 2933-2935.

POTTS (W. T. W.) et EVANS (D. H.). — Sodium and chloride balance in the killifish, *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull.*, 1967, *133*, 411-425.

POTTS (W. T. W.), FOSTER (M. A.), RUDY (P. P.) et PARRY HOWELLS (G.). — Sodium and water balance in the cichlid Teleost, *Tilapia mossambica*. *J. exper. Biol.*, 1967, *47*, 461-470.

POTTS (W. T. W.) et PARRY (G.). — Osmotic and ionic regulation in animals. *Pergamon Press*, 1964, 190 pp.

QUERIDO (A.), SCHUT (K.) et TERPSTRA (J.). — Hormone synthesis in the iodine deficient thyroid gland. In : Regulation and mode of action of thyroid hormones. *Ciba Found. Coll. Endocrinol.*, Churchill, London, 1957, *10*, 124-132.

RALL (J. E.), POWER (M. H.) et ALBERT (A.). — Distribution of radioiodine in erythrocytes and plasma of man. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, 1950, *74*, 460-461.

RALL (J. E.), ROBBINS (J.), LEWALLEN (C. G.). — The thyroid. In : G. PINCUS, K. V. THIMANN et E. B. ASTWOOD — *The hormones*, 1964, *5*, 159-439. Academic Press N. Y.

ROBERTSON (O. H.) et CHANEY (A. L.). — Thyroid hyperplasia and tissue iodine content in spawning rainbow trout: a comparative study of lake Michigan and California sea-run trout. *Physiol. Zool.*, 1953, *26*, 328-340.

ROBBINS (J.) et RALL (J. E.). — The interaction of thyroid hormones and protein in biological fluids. *Rec. Progr. Horm. Res.*, 1957, *13*, 161-202.

ROBBINS (J.) et RALL (J. E.). — The iodine containing hormones. In : *Hormones in blood*. Ed. Gray (C. H.) et BACHARACH (A. L.), 2nd edit., 1967, *1*, 383-490. Academic Press. London, New York.

ROCHE (J.) et ANDRÉ (S.). — Sur la biochimie comparée du transport des iodures chez les Vertébrés, les Invertébrés et dans les Algues. *Riv. di Biol.*, 1965, *58*, 3-21.

ROCHE (J.) et ANDRÉ (S.). — Concentration de l'iode par des végétaux d'eau douce et transport actif des iodures. *C. R. Soc. Biol.*, 1966*a*, *160*, 1800-1805.

ROCHE (J.) et ANDRÉ (S.). — Transport actif des iodures et adaptation à des conditions diverses de salinité chez les Algues. *C. R. Soc. Biol.*, 1966*b*, *160*, 2008-2012.

ROSENBERG (L. L.), GOLDMAN (M.), LA ROCHE (G.) et DIMICK (M. K.). — Thyroid function in rats and chickens. Equilibration of injected iodide with existing thyroidal iodine in Long-Evans and white Leghorn chickens. *Endocrinology*, 1964, *74*, 212-225.

SAGE (M.). — Organ culture of Teleost pituitaries. *J. Endocrinol.*, 1966, 34, IX-X.

SAIFER (A.) et STEIGMAN (J.). — Measurement of Donnan ratio by radioactive tracers and its application to protein-ion binding. *J. Phys. Chem.*, 1961, *65*, 141-144.

SAIFER (A.), WESTLEY (F.) et STEICMAN (J.). — Protein-ion binding measurements by radioactive tracers. II. The binding constants of iodide and acetate ions to bovine serum albumin. *Biochemistry*, 1964, *3*, 1624-1629.

SCATCHARD (G.). — The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1949, *51*, 660-672.

SCATCHARD (G.), COLEMAN (J. S.) et SHEN (A. L.). — Physical chemistry of protein solutions. VII. The binding of some small anions to serum albumin. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1957, *79*, 12-20.

SCHLUMBERGER (H. G.). — Spontaneous hyperplasia and neoplasia in the thyroid of animals. In : *The thyroid*, Brookhaven Symposium, 1954, 169-191.

SCOTT (K. G.), REAVIS (J. C.), SAUNDERS (W. W.) et WHITE (W. E.). — The use of 1^{131} red cell plasma ratio as a measure of thyroid function. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.*, 1951, *76*, 592-595.

Source : MNHN, Paris

SERIF (G. S.) et KIRKWOOD (S.). — Enzyme systems concerned with the synthesis of monoiodotyrosine. *J. biol. Chem.*, 1958, *233*, 109-115.

SHARRATT (B. M.), CHESTER-JONES (I.) et BELLAMY (D.). — Water and electrolyte composition of the body and renal function of the eel (*Anguilla anguilla* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, 1964, *11*, 9-18.

SHAW (T. I.). — The mechanism of iodide accumulation by the brown sea weed *Laminaria digitata*. The uptake of ^{131}I. *Proc. roy. Soc. London*, Ser. B, 1959, *150*, 356-371.

SIMON (C.). — Une nouvelle méthode d'étude du métabolisme de l'iode : la méthode d'équilibre isotopique. Aspects cinétiques et quantitatifs obtenus chez le Rat. *Thèse de Sciences*, Paris, Rapport C.E.A., R 2590, 1964, 87 p.

SMITH (M. J.) et BECK (W. S.). — Peroxidase activity of hemoglobin and its subunits effects thereupon of haptoglobin. *Biochim. Biophys. Acta*, 1967, *147*, 324-333.

SOLEWSKI (W.). — Obserwacje nad wzrostem powierzchni ciala, pletw vraz powierzchni oddechowej w skrzelach karasia (*Carassius carassius* L.) i karpia (*Cyprinus carpio* L.). *Biul. Zakl. Biologii Stawow* PAN, Krakow, 1957, n° *5*, 15-24.

SOLOMON (A. K.). — Compartmental methods of kinetic analysis. In : *Mineral metabolism*. COMAR (C. F.) and BRONNER (F.), Ed., Acad. Press, New York, 1960, vol. *1*, part A, 119-167.

STADTMAN (E. R.). — Allosteric regulation of enzyme activity. *Adv. Enzymology*, 1966, *28*, 41-154.

STERLING (K.), ROSEN (P.) et TABACHNICK (M.). — Equilibrium dialysis studies of the binding of thyroxine by human serum albumin. *J. clin. Invest.*, 1962, *41*, 1021-1030.

STERLING (K.) et TABACHNICK (M.). — Determination of the binding constants for the interaction of thyroxine and its analogues with human serum albumin. *J. biol. Chem.*, 1961, *236*, 2241-2243.

STRAUS (L. P.). — A study of the fine structure of the so-called chloride cell in the gill of the guppy *Lebistes reticulatus* P. *Physiol. Zool.*, 1963, *36*, 183-198.

TABACHNICK (M.). — Thyroxine-protein interactions. I. Binding of thyroxine to human serum albumin and modified albumins. *J. biol. Chem.*, 1964, *239*, 1242-1249.

TATA (J.). — Biological action of thyroid hormones at the cellular and molecular levels. In : *Action of hormones on molecular processes*. LITWACK (G.) et KRITCHEVSKY (D.), Ed., J. Wiley and sons, Inc., New York, 1964, 58-131.

TATA (J.). — Turnover of nuclear and cytoplasmic ribonucleic acid at the onset of induced amphibian metamorphosis. *Nature*, 1965, *207*, 378-381.

TATA (J.). — Hormones and the synthesis and utilization of ribonucleic acids. In : *Progr. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.*, DAVIDSON (J. N.) et COHN (W. E.), Ed., Acad. Press, 1966, *5*, 191-250.

TAUROG (A.). — Biosynthesis of thyroid hormone. Proc. VIth pan-american Congr. Endocrinol., *Excerpta Med. Internation. Congr.*, 1966, *112*, 367-374.

THORSON (T. B.). — The partitioning of body water in Osteichthyes : phylogenetic and ecological implications in aquatic Vertebrates. *Biol. Bull.*, 1961, *120*, 238-254.

THREADGOLD (L. T.) et HOUSTON (A. H.). — An electron microscope study of the "chloride secretory cell" of *Salmo salar* L., with special reference to plasma electrolyte regulation. *Nature*, 1961, *190*, 612-614.

THREADGOLD (L. T.) et HOUSTON (A. H.). — An electron microscope study of the "chloride cell" of *Salmo salar* L. *Exper. cell. Res.*, 1964, *34*, 1-

TONC (W.) et CHAIKOFF (I. L.). — Metabolism of I^{131} by the marine alga, *Nereocystis luetkeana*. *J. biol. Chem.*, 1955, *215*, 473-484.

TOSTESON (D. C.). — *Bull. Mt Desert Island Biol. Lab.*, 1962, *4*, 82 Cité par MAETZ (J.) et GARCIA-ROMEU (F.). *J. gen. Physiol.*, 1964, *47*, 1209-1227.

TREVORROW (V.). — Studies on the nature of the iodine in blood. *J. biol. Chem.*, 1939, *127*, 737-750.

TRITSCH (G. L.), RATHKE (C. E.), TRITSCH (N. E.) et WEISS (C. M.). — Thyroxine binding by human serum albumin. *J. biol. Chem.*, 1961, *236*, 3163-3167.

TYLER (D. D.), GONZE (J.), LAMY (F.) et DUMONT (J. E.). — Influence of mitochondrial inhibitors on the respiration and energy-dependent uptake of iodide by thyroid slices. *Biochem. J.*, 1968, *106*, 123-133.

Source : MNHN, Paris

VIBERT (R.). — Recherches sur le Saumon de l'Adour (*Salmo salar* LINNE). *Ann. Stat. Centr. Hydrobiol. appl.*, 1950, *3*, 27-149.

WAGNER (H. N. Jr), NELP (W. B.) et DOWLING (J. H.). — Use of neutron activation analysis for studying stable iodide uptake by the thyroid. *J. clin. Invest.*, 1961, *40*, 1984-1992.

WALLACE (G. B.) et BRODIE (B. B.). — The distribution of administered iodide and thiocyanate in comparison with chloride and their relation to body fluids. *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1937, *61*, 397-411.

WARD (D. N.) et ARNOTT (M. S.). — Gel filtration of proteins, with particular reference to the glycoprotein, luteinizing hormone. *Anal. Biochem.*, 1965, *12*, 296-302.

WELCH (K.). — Active transport of iodide by choroid plexus of the rabbit *in vitro*. *Amer. J. Physiol.*, 1962, *202*, 757-760.

WHITAKER (J. R.). — Determination of molecular weights of proteins by gel filtration on Sephadex. *Anal. Chem.*, 1963, *35*, 1950-1953.

WOLFF (J.). — Thyroidal iodide transport. I. Cardiac glycosides and the role of potassium. *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, *38*, 316-324.

WOLFF (J.). — The effect of thyroxine on isolated dehydrogenases. II. Sedimentation changes in glutamic dehydrogenase. *J. biol. Chem.*, 1962, *237*, 230-242.

WOLFF (J.). — Transport of iodide and other anions in the thyroid gland. *Physiol. Rev.*, 1964, *44*, 45-90.

WOLFF (J.) et CHAIKOFF (I. L.). — Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *J. biol. Chem.*, 1948, *174*, 555-564.

WOLFF (J.) et HALMI (N. S.). — Thyroidal iodide transport. V. The role of Na^+—K^+—activated ouabain-sensitive adenosine-triphosphatase activity. *J. biol. Chem.*, 1963, *238*, 847-851.

WOLFF (J.) et MAUREY (J. R.). — Thyroidal iodide transport. II. Comparison with non-thyroid iodide concentrating tissues. *Biochim. Biophys. Acta*, 1961, *47*, 467-474.

WOLFF (J.) et MAUREY (J. R.). — Thyroidal iodide transport. IV. The role of ion size. *Biochim. Biophys. Acta*, 1963, *69*, 58-67.

WOOD (J. L.), WILLIAMS (E. F. Jr) et KINGSLAND (N.). — The conversion of thiocyanate sulfur to sulfate in the white rat. *J. biol. Chem.*, 1947, *170*, 251-259.

WYMAN (J.). — Allosteric effects in hemoglobin. *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1963, *28*, 483-489.

WYNGAARDEN (J. B.) et STANBURY (J. B.). — The formation of monoiodotyrosine and an intermediate iodine complex by thyroid homogenates. *J. biol. Chem.*, 1955, *212*, 151-164.

YAMADA (T.), IINO (S.) et SHICHIJO (K.). Inhibitory effect of excess iodide on thyroidal radioiodine release in the rat. *Endocrinology*, 1963, *72*, 83-90.

IMPRIMERIE NATIONALE 0.564.011.6

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris